

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAFAELA CRISTINA TUROLA BARBI

CARACTERIZAÇÃO DOS FRUTOS MADUROS E IMATUROS DE INAJÁ (*Maximiliana
Maripa*): UMA NOVA FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE ALTO VALOR
AGREGADO

CURITIBA

2020

RAFAELA CRISTINA TUROLA BARBI

CARACTERIZAÇÃO DOS FRUTOS MADUROS E IMATUROS DE INAJÁ (*Maximiliana
Maripa*): UMA NOVA FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE ALTO VALOR
AGREGADO

Tese apresentada como requisito parcial a obtenção do grau de
Doutor em Engenharia de Alimentos, no Curso de Pós-
Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia
da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^ª.Dr^ª.Rosemary Hoffmann Ribani
Orientador: Prof. Dr. Marcos Lúcio Corazza

CURITIBA

2020

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

B236c

Barbi, Rafaela Cristina Turola

Caracterização dos frutos maduros e imaturos de inajá (Maximiliana Maripa): uma nova fonte de compostos bioativos de alto valor agregado [recurso eletrônico] / Rafaela Cristina Turola Barbi. – Curitiba, 2020.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2020.

Orientadora: Rosemary Hoffmann Ribani.

Coorientador: Marcos Lúcio Corazza.

1. Palmeira. 2. Compostos bioativos. 3. Ácidos Graxos. 4. Óleos vegetais. I. Universidade Federal do Paraná. II. Ribani, Rosemary Hoffmann. III. Corazza, Marcos Lúcio. IV. Título.

CDD: 665.3

Bibliotecária: Vanusa Maciel CRB- 9/1928



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE
ALIMENTOS - 40001016019P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **RAFAELA CRISTINA TUROLA BARBI** intitulada: **Caracterização dos frutos maduros e imaturos de inajá (*Maximiliana maripa*): uma nova fonte de compostos bioativos de alto valor agregado**, sob orientação da Profa. Dra. ROSEMARY HOFFMANN RIBANI, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 02 de Outubro de 2020.

Assinatura Eletrônica

08/10/2020 14:47:13.0

ROSEMARY HOFFMANN RIBANI

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

13/10/2020 14:14:56.0

ARIÁDINE REDER CUSTÓDIO DE SOUZA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE)

Assinatura Eletrônica

13/10/2020 14:44:05.0

AGNES DE PAULA SCHEER

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

08/10/2020 19:38:20.0

AILEY APARECIDA COELHO TANAMATI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

07/10/2020 14:13:45.0

HELAYNE APARECIDA MAIEVES

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS)

Francisco Heráclito dos Santos, 100 - Centro Politécnico - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531-980 - Tel: (41) 3361-3232 - E-mail: posalim@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 54918

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 54918

Dedico este trabalho à Deus, sem o teu amor eu nada seria. Também dedico aqueles que nunca desistiram de mim, Joaquim, Marlos, Irineu, Márcia e Juliana.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, que sempre fez presente em minha vida e nunca desistiu de mim, apesar de todos os meus erros e tropeços.

Aos meus queridos e amados pais, Márcia e Irineu, fortaleza de nossa família. Obrigada por toda educação que me destes, e por toda a confiança depositada em mim. Sem vocês dois, este título não teria sido possível.

A minha irmã Juliana, por sempre me incentivar a continuar, a me dar forças e palavras de conforto em tantos momentos que eu me vi desacreditada.

Ao meu filho Joaquim, fonte de esperança e de um amor mais puro que eu nunca senti na vida. Aquele que me dá força para continuar a trilhar o meu caminho.

Ao meu querido esposo Marlos, meu companheiro de longa data e meu ombro amigo. Obrigada por todo o apoio e por ter me incentivado a continuar a estudar.

Os mais sinceros agradecimentos a minha orientadora, Prof^a Rosemary Hoffmann Ribani, por lá no início (2016) ter me aceito em seu grupo, pela confiança em mim depositada, pela disponibilidade em ensinar, ajudar e estimular meu potencial. Obrigada pelo carinho e amizade durante esta caminhada, você é um exemplo a ser seguido e jamais esquecerei o que fez por mim.

Ao Prof^o Marcos Lúcio Corazza, meu co-orientador, obrigada pela disponibilização da infraestrutura do Lacta, por ter abraçado a minha proposta de trabalho e pela confiança em mim depositada.

Aos meus queridos amigos do Laboratório Bioativos, Gerson, Suelen, Poly, Dani, Anely, Fillemon, Bruno e Mônica, que foram fundamentais para a conclusão desta etapa. Agradeço pelos momentos de descontrações, pelos sorrisos, por toda ajuda em todos os momentos que eu precisei. Vocês estarão para sempre em meu coração.

Agradeço em especial a Ariádine Reder, minha amiga que a pós-graduação me deu, sem você este trabalho não teria sido possível. Obrigada por todos os momentos que passaste ao meu lado, e mesmo a distância continuaste a me incentivar a continuar, a persistir no meu propósito.

Ao Areovaldo José Filipini e Fausto Lazzarotto (em memória) por ter gentilmente coletado os frutos de inajá utilizado neste estudo.

Ao PPGEAL pela oportunidade deste doutorado.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

Entregue o seu caminho ao Senhor. Confie nele,
e tudo Ele fará.

(Salmos 37:5)

RESUMO

A palmeira de inajá (*Maximiliana Maripa* (Aubl.) Drude) pertencente à família da Arecaceae (Palmae), é nativa da região Norte do Brasil, com ocorrência prevalente no Estado do Pará, Rio Amazonas, chegando até o Maranhão. De ocorrência também nos demais países vizinhos, como Venezuela, Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Suriname, Peru entre outros. O inajá apresenta alto potencial de aplicação devido a sua riquíssima composição em compostos bioativos presentes em seu óleo, o qual é extraído a partir das polpas e castanhas, como também das suas farinhas integrais e desengorduradas (**Capítulo 1**). O objetivo deste trabalho foi avaliar o processo de extração na obtenção do óleo de inajá por via clássica e por fluidos pressurizados, analisando rendimento, como também a qualidade do óleo obtido em termos de comportamento térmico, ácidos graxos, composição química, e bioativas. Além disso, as farinhas dos frutos não maduros e maduros integrais e desengorduradas oriundos dos processos de extração foram também estudados. No **Capítulo 2**, apresenta a extração dos óleos de inajá por meio de fluido subcrítico e por Soxhlet, usando propano comprimido e solventes orgânicos (éter de petróleo e n-hexano) respectivamente. Os óleos obtidos foram avaliados quanto a composição em ácidos graxos, qualidade lipídica, propriedades térmicas, compostos fenólicos totais, carotenoides totais, atividade antioxidante, e composição química. No **Capítulo 3** é estudado a influência na obtenção do óleo de inajá usando o método de extração com etanol pressurizado, CO₂ supercrítico puro, mistura de CO₂ supercrítico com etanol e com solventes orgânicos (acetato de etila, etanol e metanol) por Soxhlet. As amostras de óleo foram analisadas em relação ao perfil de ácidos graxos, qualidade lipídica e composição química. De forma geral, todas as amostras de óleos obtidas pelos diferentes métodos de extração e solventes empregues nestes estudos, apresentaram elevada capacidade antioxidante, estabilidade térmica, composição química composta majoritariamente por ácido oleico e palmítico e, além disso alta concentração de carotenoides totais. O **Capítulo 4** apresenta as características das farinhas integrais no estágio de maturação não maduro e maduro, como também das farinhas desengorduradas geradas a partir da extração por Soxhlet usando o solvente etanol. Todas as amostras das farinhas foram analisadas quanto as suas propriedades físico-químicas, comportamento de pasta, térmica, estrutural, e perfis de fenólicos totais individuais livres e ligados. Além disso, as características bioativas e térmicas foram avaliadas nos óleos obtidos com o solvente etanol. Tanto as farinhas integrais, como as desengorduradas no estágio de maturação imaturas e maduras mostraram-se ricas em compostos bioativos nas frações fenólicas livres e ligadas. Em todas as farinhas de inajá foi observado presença de amido. Portanto, foi comprovado neste estudo que tanto os óleos como as farinhas de inajá possuem propriedades nutricionais de interesse industrial, o que colabora com futuras aplicações no ramo alimentício, farmacêutico e cosmético. Com os resultados obtidos neste estudo a palmeira de inajá até então pouco utilizada comercialmente, pode vir a torna-se uma fonte rentável aos agricultores locais.

Palavras-chave: óleo de inajá, palmeiras, amido de inajá, fluidos pressurizados.

ABSTRACT

The inajá palm (*Maximiliana Maripa* (Aubl.) Drude) belonging to the Arecaceae family (Palmae), is native to the northern region of Brazil, occurring prevalently in the State of Pará, Amazonas River, reaching as far as Maranhão. It also occurs in other neighboring countries, such as Venezuela, Bolivia, Colombia, Ecuador, French Guiana, Suriname, Peru, among others. Inajá has a high application potential due to its very rich composition of bioactive compounds present in its oil, which is extracted from the pulps and nuts, as well as from its integral and defatted flours (**Chapter 1**). The study aim was to evaluate the extraction process in obtaining inajá oil by the classic route and by pressurized fluids, analyzing yield, as well as the quality of the oil obtained in terms of thermal behavior, fatty acids, chemical composition, and bioactive. In addition, the flours of immature and ripe whole fruits and degreases from the extraction processes were also studied. **Chapter 2** presents the extraction of inajá oils employing subcritical fluid and by Soxhlet, using long propane and organic solvents (petroleum ether and n-hexane), respectively. The oils obtained were evaluated for fatty acid composition, lipid quality, thermal properties, total phenolic compounds, total carotenoids, antioxidant activity, and chemical composition. In **Chapter 3**, the influence of obtaining inajá oil using the extraction method with pressurized ethanol, pure supercritical CO₂, a mixture of supercritical CO₂ with ethanol and with organic solvents (ethyl acetate, ethanol, and methanol) by Soxhlet is studied. The oil samples were analyzed concerning the fatty acid profile, lipid quality, and chemical composition. In general, all oil samples obtained by the different extraction methods and solvents used in these studies showed high antioxidant capacity, thermal stability, chemical composition composed mainly of oleic and palmitic acid, and, in addition, high concentration of total carotenoids. **Chapter 4** presents the characteristics of raw flours in the unripe and ripe stage of maturation, as well as the defatted flours generated from Soxhlet extraction using the ethanol solvent. All flour samples were analyzed for their physical-chemical properties, paste, thermal, structural behavior, and profiles of individual free and bonded total phenolics. In addition, the bioactive and thermal characteristics were evaluated in oils obtained with the ethanol solvent. Both the raw flour and the defatted at the stage of unripe and ripe maturation showed rich in bioactive compounds in the free and bound phenolic fractions. Starch was observed in all inajá flours. Therefore, it was proven in this study that both oils and inajá flours have nutritional properties of industrial interest, which collaborates with future applications in the food, pharmaceutical, and cosmetic sectors. The results obtained in this study, the inajá palm, which until then was little used commercially, may become a profitable source for the local farmers.

Keywords: inajá oil, palm trees, inajá starch, pressurized fluids.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 Inajazeiro no Pará (a.b); Palmeiras de Inajá (c); Frutos de inajá no cacho.....	06
Figura 1.2 Inajá. (a) Frutos de Inajá e semente (b) Fruto de Inajá maduro (c) Fruto de Inajá não maduro.....	07
Figura 1.3 Extrator Soxhlet convencional.....	12
Figura 1.4. Diagrama esquemático do sistema de extração. C1: cilindro de solvente; B1 e B2: banho ultra termostático; P1: bomba do tipo seringa; E1: extrator; S: vaso de separação; V1: válvula de esfera; V2 e V3: válvula de agulha; V4: válvula de agulha micrométrica; linhas pontilhadas: fluidos de troca de calor.....	14
Figura 1.5. Diagrama esquemático do sistema de extração. 1: reservatório; 2: bomba de deslocamento positivo de alta pressão; 3: válvula agulha on-off; 4: recipiente de pré-aquecimento; 5: célula de extração com controle de temperatura; 6: vaso refrigerador; 7: banho com temperatura controlada; 8: manômetro; 9: válvula agulha de controle de pressão; 10: válvula de contrapressão; 11: recipiente coletor do extrato final; 12: sensores de pressão e temperatura.....	16

CAPÍTULO 2

Figura 2.1 Curvas gerais de extração experimental para óleo de polpa de inajá com propano como solvente em diferentes pressões e temperaturas.....	33
Figura 2.2 Curvas TG/ DTG de óleo de polpa de inajá obtidas usando propano subcrítico (OIP1-OIP5) e Soxhlet usando métodos de n-hexano (OISH) e éter de petróleo (OISP).....	39
Figura 2.3. Resposta da superfície para o conteúdo total de β -caroteno (a) e gráfico de Pareto (b) mostrando os efeitos estimados padronizados de temperatura e pressão ($p > 0,05$) para a extração de óleo de polpa de inajá usando propano subcrítico.....	48

CAPÍTULO 3

Figura 3.1. Curvas cinéticas experimentais para extração de óleo de polpa de palma de maripa madura usando scCO ₂ puro (a), scCO ₂ + etanol como co-solvente (b) e extração líquida pressurizada com etanol (c).....	64
--	----

CAPÍTULO 4

Figura 4.1. (a), (b) comportamento térmico do óleo de inajá; (c) espectro DRIFTS de farinhas de inajá na região de 4.000-500 cm^{-1} . (d) Difratoograma mostrando o perfil radiográfico das farinhas de inajá.....	91
Figura 4.2. (a) Microscopia eletrônica de varredura de grânulos de farinha de inajá com ampliação de 2000x; b) Farinhas de inajá produzidas. UIF: RIF: farinha de inajá madura; DUIF: farinha de inajá não maduro desengordurada; DRIF: farinha inajá madura desengordurada.....	95

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.1 Perfil dos ácidos graxos de óleos de polpa de inajá.....	08
---	----

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1 Condições experimentais e resultados da extração do óleo da polpa de inajá (<i>Maximiliana maripa</i>) usando propano comprimido, <i>n</i> -hexano, e éter de petróleo.....	32
Tabela 2.2 Perfil de ácidos graxos de óleos de polpa de inajá obtidos por propano comprimido, <i>n</i> -hexano e éter de petróleo.....	36
Tabela 2.3 Índices de qualidade lipídica de óleos de polpa de inajá obtidos por propano comprimido, <i>n</i> -hexano e éter de petróleo.....	37
Tabela 2.4 Dados TG/DTG para cada estágio de degradação térmica dos óleos de inajá.....	40
Tabela 2.5 Composição química do óleo de polpa de inajá obtido a partir de propano comprimido, <i>n</i> -hexano e éter de petróleo.....	42
Tabela 2.6 β -caroteno, conteúdo fenólico e atividade antioxidante de óleos de polpa de inajá obtidos a partir de propano comprimido e extração de Soxhlet.....	46
Tabela 2.7 Análise de variância (ANOVA) para o modelo linear ($R^2 = 0,95$; $R^2_{adj} = 0,89$) do conteúdo total de β -caroteno no óleo de polpa de inajá obtido por propano comprimido.....	48

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1 Rendimento da extração e condições experimentais do óleo de polpa de palma da maripa obtido por SFE, PLE e Soxhlet.....	62
Tabela 3.2 Perfil de ácidos graxos do óleo de polpa de palma da maripa obtido por SFE, PLE e Soxhlet.....	66
Tabela 3.3 Índices de qualidade lipídica do óleo de polpa de palma da maripa obtidos por SFE, PLE e Soxhlet.....	68
Tabela 3.4 Chemical composition of maripa palm pulp oil samples obtained by the different extraction methods.....	69

CAPÍTULO 4

Tabela 4.1 Carotenoides totais, conteúdo fenólico total e capacidade antioxidante das amostras de óleo e farinha de inajá.....	86
Tabela 4.2 Compostos bioativos identificados em amostras de inajá por HPLC-PDA.....	89

Tabela 4.3 Composição centesimal, teor total de amido, amilose e amilopectina e valores de cor das farinhas de inajá.....	94
Tabela 4.4 MEV, XRD e propriedades de pasta das farinhas de inajá.. ..	99
Tabela 4.5 Perda de massa e temperaturas de eventos das curvas TG/ DTG das farinhas de inajá.....	102

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS - 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

AG - Ácido graxo

AGI – Ácido graxo insaturado

AGMI – Ácido graxo monoinsaturado

AGPI – Ácido graxo poli-insaturado

AGS – Ácido graxo saturado

ANOVA – Análise de variância

DPPH - 1,1-difenil-2-picrilhidrazi

DRIFTS– FTIR - Espectroscopia por refletância difusa com transformada de Fourier

DSC - Calorimetria Diferencial de Varredura/Exploratória Diferencial

DTG - Derivada termogravimétrica

EAG - Equivalentes de ácido gálico

EtOH - Etanol

FRAP - Potencial antioxidante de redução do ferro

PLE – Extração com líquido pressurizado

scCO₂ – Dióxido de carbono supercrítico

scCO₂+EtOH – Mistura CO₂ supercritico com etanol

TPC – Conteúdo Fenólico total

TGA – Análise termogravimétrica

TPTZ - 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina

TROLOX - hidroxil-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico

UIF – farinha de inajá imatura

RIF – farinha de inajá madura

LDPE - Polietileno de Baixa Densidade

OISP – óleo de inajá extraído por Soxhlet usando éter de petróleo

OISH - óleo de inajá extraído por Soxhlet usando *n*-hexano

SFA – ácidos graxos saturados

LDL – lipoproteína de baixa densidade

MPPO – óleo de polpa de palma da maripa

SFE – extração com fluido supercrítico

IT – índice de trombogenicidade

OPI – óleo de polpa de inajá

NIST-14 - banco de dados de referência padrão

AI – índice de aterogenicidade

PUFA – ácidos graxos poliinsaturados

MUFA – ácidos graxos monoinsaturados

FTIR - espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

MEV – microscopia eletrônica de varredura

TG - termogravimetria

HDL – lipoproteína de alta densidade

RVA - Rapid Visco Analyser

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	4
OBJETIVO GERAL.....	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA.....	6
1.1. INAJÁ.....	6
1.2. ÓLEO DE INAJÁ.....	8
1.2.1. PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS	8
1.4. TECNOLOGIA DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS	11
1.5. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS DE INAJÁ	16
1.6. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DAS FARINHAS E SUBPRODUTOS	17
CAPÍTULO 2 – EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE INAJÁ DE ALTA QUALIDADE USANDO PROPANO SUBCRÍTICO.....	20
2.1. INTRODUÇÃO.....	20
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.2.1. AMOSTRAS DE INAJÁ	23
2.2.2. EXTRAÇÃO DO ÓLEO DA POLPA DE INAJÁ.....	24
2.2.3. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO	25
2.2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	30
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
2.3.1. RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO	30
2.4.CONCLUSÃO.....	50
CAPÍTULO 3 – PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E QUALIDADE LIPÍDICA DO ÓLEO DE MAXIMILIANA MARIPA OBTIDO POR CO₂ SUPERCRÍTICO E ETANOL PRESSURIZADO	53
3.1. INTRODUÇÃO.....	53
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	55
3.2.1. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DOS FRUTOS DA MARIPA	55
3.2.2. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	56
3.2.3. ANÁLISES DO ÓLEO	58
3.2.4 ANÁLISES DOS DADOS	60
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60

3.3.1. EXTRAÇÃO COM SOLVENTES ORGÂNICOS	60
3.3.2 EXTRAÇÃO COM SOLVENTES PRESSURIZADOS	63
3.3.3. PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS	65
3.3.4. QUALIDADE LIPÍDICA DO ÓLEO DE MARIPA	67
3.3.4. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE MARIPA	68
3.4. CONCLUSÃO	71
CAPÍTULO 4 – FRUTOS MADUROS E NÃO MADUROS DE INAJÁ (<i>MAXIMILIA MARIPA</i>): UMA NOVA FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE ALTO VALOR AGREGADO.....	74
4.1. INTRODUÇÃO.....	74
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	76
4.2.1. AMOSTRAS INTEGRAIS	76
4.2.2. EXTRAÇÃO DO ÓLEO	77
4.2.3. PREPARAÇÃO DAS FARINHAS DESENGORDURADAS	78
4.2.4. ANÁLISES DO ÓLEO E DAS FARINHAS DE INAJÁ	78
4.2.4.1. ANÁLISES DOS ÓLEOS	78
4.2.4.1.1. CONTEÚDO DE CAROTENOIDES TOTA	78
4.2.4.2. ANÁLISES DAS FARINHAS	80
4.2.4.2.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ANÁLISE DE COR.....	80
4.2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	85
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
4.3.1. ÓLEO DE INAJÁ.....	85
4.3.1.3. DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA.....	90
4.3.2. FARINHAS DE INAJÁ	92
4.3.2.2. PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS	96
4.3.2.3. PROPRIEDADES DE PASTA POR RVA	100
4.3.2.4. ANÁLISE TÉRMICA	102
4.3.2.5. CONTEÚDO DE CAROTENOIDES, FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	103
4.3.2.6. COMPOSTOS BIOATIVOS ANALISADOS POR HPLC-PDA.....	105
4.4. CONCLUSÃO.....	107
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	108
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	109
REFERÊNCIAS.....	110

ANEXO I.....	120
ANEXO II	121
ANEXO III	122

INTRODUÇÃO

O território brasileiro possui uma valiosa reserva de palmeiras nativas e a investigação de suas espécies têm contribuído com a preservação e valorização da biodiversidade brasileira. Pesquisas com os frutos e subprodutos dessas palmeiras podem impulsionar outras opções de exploração agrícola para o país de forma racional, sustentável e eficiente.

A Amazônia abriga a maior diversidade de palmeiras do território brasileiro. De 42 gêneros existentes, 35 são encontrados na Amazônia e cerca de 150 das 208 espécies reconhecidas para o Brasil. Os gêneros *Bactris* e *Geonoma* são os mais diversificados na Amazônia brasileira, juntos incluem cerca de 43% das espécies amazônicas. Os gêneros *Astrocaryum*, *Attalea*, *Oenocarpus*, *Syagrus*, *Desmoncus*, *Euterpe* e *Leopoldinia* são outros gêneros importantes que representam cerca de 30% da diversidade de palmeiras da região (FERREIRA, 2016).

O inajá (*Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude), pertence à família das Arecaceae (Palmae), é uma palmeira nativa Brasil, com ocorrência na região Norte, e também está presente nos demais países vizinhos, como Venezuela, Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Suriname, Peru entre outros (ARAÚJO; LEITÃO; MENDONÇA, 2000; CAVALCANTE, 1991).

O fruto de inajá pode ser aproveitado totalmente, da polpa obtém-se o óleo (37,16%), proteína (14,25%) e água (5,80%), enquanto as amêndoas produzem 59,28% de óleo, 19,25% de proteínas e 5,80% de água, além de outros materiais. No entanto, as populações naturais de inajá são destruídas pela prática de derrubada e queima na Amazônia (BEZERRA, 2011).

Um dos produtos de potencial industrial obtido a partir da polpa do fruto de inajá é o seu óleo, que pode ser extraído a partir de métodos convencionais com diferentes solventes orgânicos (metanol, etanol, hexano, éter de petróleo, acetato de etila, entre outros). No entanto, esses métodos (Soxhlet, Bligh & Dyer, entre outros) apresentam inconvenientes como,

necessidade de altas temperaturas, alto gasto de solvente, longo tempo de processo. Tecnologias não convencionais, como a extração por fluidos sub- e supercríticos e a extração com líquido pressurizado vem se tornando uma alternativa para anular as desvantagens apresentadas pelos métodos convencionais (SOUZA et al., 2019; TEIXEIRA et al., 2017).

Além do óleo, após a extração é gerado um subproduto, denominado como farinha desengordurada, possui potencial de exploração industrial, não sendo considerada um resíduo, já que o fruto é 100% comestível. Os subprodutos apresentam um uso potencial para a alimentação humana, uma vez que eles podem ser ricos em fibras e compostos antioxidantes. Segundo Ayala-Zavala et al. (2011), os subprodutos de frutos exóticos/não convencionais podem apresentar quantidades maiores de compostos bioativos (fibra dietética, compostos fenólicos e carotenoides) e poderiam ser encaminhados a aplicações industriais como corantes, texturizantes, antimicrobianos, aromatizantes e antioxidantes no controle da oxidação lipídica e como ingredientes alimentares funcionais.

A investigação de fontes não convencionais e subprodutos de alimentos pode contribuir para a redução da exploração excessiva dos recursos ou esgotamento das matérias-primas e encontrar produtos com novas características tecnológicas, com propriedades bioativas e valor nutricional. Com os dados obtidos a partir da presente pesquisa, é possível agregar valor ao fruto de inajá, principalmente nos seus óleos e subprodutos, divulgar maiores informações a respeito dos seus benefícios, para assim despertar interesse em sua comercialização e desta forma reverter o cenário desolador e passível de extração desta palmeira nativa.

Portanto, diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi duplo: i) comparar os diferentes solventes, como também o método de extração na obtenção do óleo da polpa de inajá, em termos de rendimento, perfil de ácidos graxos, estabilidade térmica e compostos bioativos bem como, ii) avaliar a qualidade das farinhas integrais imaturas e maduras e seus subprodutos gerados a partir da retirada da fração oleosa em termos de compostos fenólicos e atividade

antioxidante das frações livres e ligados, comportamento térmico, propriedade de pasta, e estruturais.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a qualidade do óleo da polpa de frutos da palmeira de inajá e das farinhas integrais e desengorduradas resultantes da extração do óleo obtido por diferentes métodos de extração.

Objetivos específicos

Objetivos específicos para estudo dos óleos de inajá:

- Obter óleo da polpa madura de inajá por diferentes métodos de extração: convencionais por Soxhlet com etanol, metanol, acetato de etila, hexano e éter de petróleo, e não convencionais por CO₂ supercrítico, CO₂ supercrítico com adição de co-solvente etanol e extração com etanol pressurizado.
- Determinar o rendimento do óleo de inajá obtidos pelas diferentes vias de extração avaliados neste estudo, e a influencia das variáveis do processo sobre os rendimentos para as extrações subcríticas.
- Identificar o perfil químico do óleo de inajá obtido por cromatografia a gás acoplada ao espectro de massas (CG-ES).
- Identificar e quantificar o perfil de ácidos graxos por cromatografia a gás acoplada a um detector de ionização de chama (CG-FID).
- Quantificar os compostos bioativos e atividade antioxidante dos óleos extraídos.
- Avaliar o comportamento térmico das amostras de óleo por termogravimétrica.

Objetivos específicos para as farinhas integrais e desengorduradas de inajá:

- Caracterizar as propriedades físico-químicas e estruturais das farinhas integrais e desengorduradas da polpa imatura e madura de inajá;
- Avaliar o perfil térmico por termogravimetria das farinhas de inajá;
- Estudar as propriedades de pasta em viscoamilógrafo (RVA) de todas as farinhas de inajá;
- Determinar os compostos fenólicos das frações livres e ligadas e as suas atividades antioxidantes *in vitro*;
- Identificar e quantificar por cromatografia líquida de alta eficiência os compostos fenólicos das frações livres e ligadas das farinhas integrais e desengorduradas.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

1.1. INAJÁ

O inajá, de nome científico *Maximiliana Maripa* (Aubl.) Drude, pertence à família das Arecaceae (Palmae), é uma palmeira nativa da região Norte do Brasil, com ocorrência prevalente no Estado do Pará, Maranhão, e também está presente nos demais países vizinhos, como Venezuela, Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Suriname, Peru entre outros (ARAÚJO; LEITÃO; MENDONÇA, 2000; CAVALCANTE, 1991).

Também conhecida como anaiá, anajá, aritá, coqueiro-anaiá, inajazeiro, maripá e najá, o inajá é uma palmeira de porte mediano, monocaule, chegando a alcançar de 3,5 m a 20 m de altura, conforme mostrado na **Figura 1.1a.b**. Adepto desde áreas abertas até matas úmidas, produz em torno de 5 a 6 cachos/ano, dando entre 800 a 1000 frutos (**Figura 1.1c**) por cacho (BEZERRA, 2011).

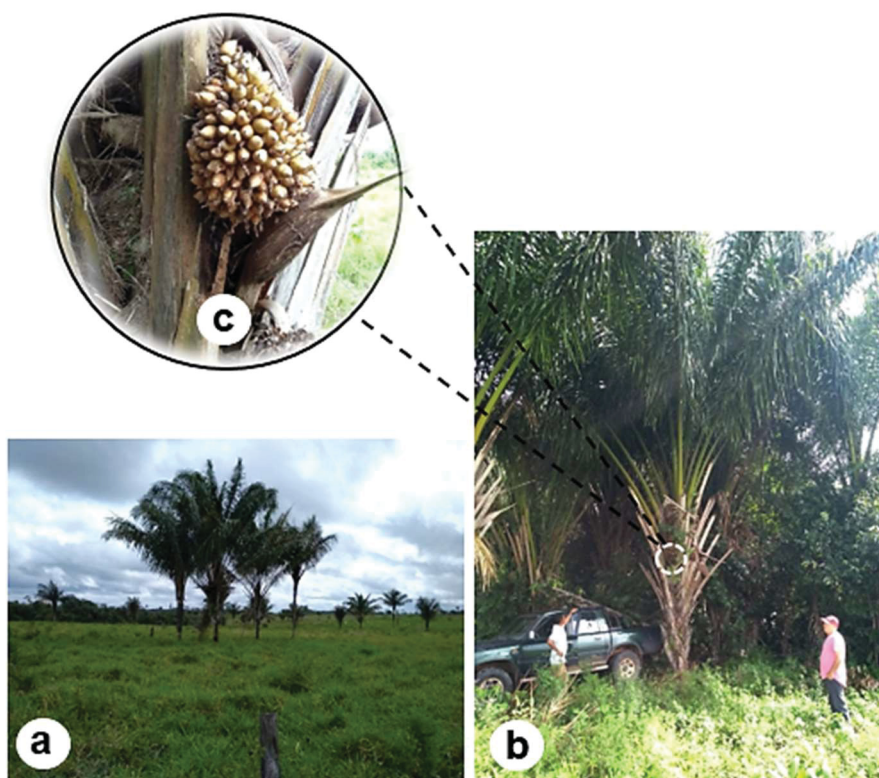


Figura 1.1. Inajazeiro no Pará (a.b); Palmeiras de Inajá (c); Frutos de inajá no cacho
FONTE: O autor (2020).

Seus frutos têm forma cônica, são compostos de uma semente lenhosa e dentro delas encontra-se de 1 a 3 amêndoas (**Figura 1.2a**). Possui um epicarpo fibroso e, entre o epicarpo e a semente lenhosa, localiza-se a polpa, é succulenta e comestível, de cor laranja, pastosa e oleosa, quando madura (**Figura 1.2b**). Quando em estágio não maduro sua polpa é pouco pastosa e levemente amarelada (**Figura 1.2c**) (BEZERRA, 2011).



Figura 1.2. Inajá. (a) Frutos de Inajá e semente (b) Fruto de Inajá maduro (c) Fruto de Inajá não maduro
FONTE: O autor (2020).

O período de florada e frutificação do inajá varia muito da região que se encontra, no Pará, por exemplo, o inajazeiro floresce entre outubro e março e frutifica entre janeiro e março do ano posterior. No Acre, floresce em julho e frutifica no começo de novembro (SHANLEY; MEDINA, 2005). No Sudeste do Pará, próximo a cidade de Breu Branco, pode ser encontrado frutos de inajá durante o ano inteiro.

O fruto de inajá apresenta amplo potencial econômico, a partir da polpa e das amêndoas são extraídos óleo comestível, já o palmito é aproveitado para alimentação de animais, pois acredita-se que ajuda na engorda e na produção de leite. A polpa pode ser consumida fresca ou cozida, servida como um mingau (SHANLEY; MEDINA, 2005). Além disso, o resíduo remanescente após a extração dos óleos contém fibras, proteínas, amido, minerais, podendo também ser aproveitado em beneficiamento de alimentos.

1.2. ÓLEO DE INAJÁ

1.2.1. Perfil de ácidos graxos

O efeito dos diferentes solventes – incluindo metanol, éter de petróleo, n-hexano, acetato de etila, CO₂ supercrítico, propano subcrítico e etanol pressurizado – no rendimento de extração e nas propriedades bioativas dos extratos obtidos a partir do óleo de inajá tem sido reportado (RODRIGUES et al., 2010; SANTOS et al., 2013; SANTOS et al., 2017; BARBI et al., 2019; BARBI et al., 2020a). Com relação ao perfil de ácidos graxos do óleo da polpa de inajá, similiaridades foram observadas em todas as pesquisas como mostrado na **Tabela 1.1**.

Tabela 1.1 Perfil dos ácidos graxos de óleos de polpa de inajá

Ácidos graxos (%)	Rodrigues et al. 2010	Santos et al. 2013	Santos et al. 2017	Barbi et al. 2019	Barbi et al. 2020
Láurico (C12:0)	3,70	4,60	-	0,68-0,73	0,70-1,30
Mirístico (C14:0)	7,60	10,70	9,99	1,57-1,63	1,60-2,30
Palmítico (C16:0)	20,10	25,10	36,42	19,84-20,26	20,00-21,80
Palmitoléico (C16:1)	0,10	0,30	-	-	-
Estearico (C18:0)	3,50	1,60	-	3,11-3,31	3,10-3,40
Oléico (C18:1)	52,40	39,20	53,59	60,43-60,82	58,20-60,50
Linoleico (C18:2)	8,90	12,90	-	6,47-6,77	6,50-6,80
Linolênico (C18:3)	0,20	1,50	-	6,33-6,38	6,40-6,60
Eicosanóico (C20:0)	3,20	1,30	-		

Como observado nos estudos exibidos na **Tabela 1.1**, o ácido oleico é o ácido graxo majoritário encontrado na polpa do fruto de inajá, seguido pelo palmítico. É atribuído a ingestão de alimentos ricos em ácidos graxos monoinsaturados (por exemplo, ácido oleico) benefícios à saúde. Appel et al. (2005), mostraram em sua pesquisa uma redução nos casos de doenças cardiovasculares conforme o consumo de ácidos graxos monoinsaturados na dieta.

As polpas dos frutos de palmeiras, principalmente aquelas com coloração amarela e laranja, são fontes muito ricas de carotenóides tetraterpênicos, especialmente β -caroteno.

Santos et al. (2015), identificaram e quantificaram que o óleo da polpa de inajá é composto majoritariamente pelo licopeno (30,82 mg/kg de óleo) seguido pelo β -caroteno (23,03 mg/kg de óleo). Barbi et al. (2019), observaram que pelo método de Soxhlet e usando o solvente n-hexano foi obtido o óleo de inajá com maior rendimento de carotenoides totais (140 mg/100 g de óleo). O óleo de inajá extraído da polpa imatura apresentou menor quantidade de carotenoides totais (76,21 mg/100 g de óleo) quando comparado com o óleo obtido a partir da polpa madura (96,98 mg/100 g de óleo), ambos extraídos via Soxhlet usando etanol como solvente (BARBI et al., 2020b).

1.2.2. Compostos Bioativos

Diferentes frutos de palmeiras já tem sido reportado na literatura evidenciando os benefícios quanto aos seus compostos bioativos, palmeiras como a *Euterpe edulis* (CARPINE et al., 2019), *Oenocarpus distichus* Mart (CUNHA et al., 2019), *Mauritia flexuosa* (RUDKE et al., 2019) são ricas em compostos fenólicos e consequentemente em atividade antioxidante. O inajá comparado a outras palmeiras nativas brasileiras, ainda é pouco explorado economicamente; no entanto, apresenta alto potencial de compostos bioativos sendo promissor também o seu uso.

Barbi et al. (2019), mostraram que usando o solvente n-hexano foi possível extrair um óleo com maior teor de fenólicos totais, próximo ao óleo extraído através do éter de petróleo. Foram identificados também fenólicos totais em todos os óleos de inajá, extraídos em diferentes condições de processo (temperatura x pressão) com propano subcrítico. Técnicas não convencionais de extração vem sendo cada vez mais utilizadas na obtenção de óleos vegetais, pois conferem extratos ricos com em compostos bioativos com alta pureza (SOUZA et al., 2018; CUCO et al., 2019; TEIXEIRA et al., 2018).

Em outro estudo com o fruto de inajá, Barbi et al. (2020) observaram que o óleo extraído via Soxhlet usando etanol como solvente a partir da polpa imatura, resultou em maior teor de

compostos fenólicos totais quando comparado ao óleo obtido da polpa madura. Entretanto, o rendimento de extração da polpa imatura foi menor em relação a polpa madura.

O perfil de carotenoide do óleo de inajá foi identificado por Santos et al. (2015). Foi observado que o óleo de inajá apresentou em maior proporção o carotenoides licopeno (aproximadamente 33%), seguido por β -caroteno (23%). Os carotenoides apresentam alta capacidade antioxidante e propriedades anti-carcinogênica. Segundo Santos et al. (2015), o β -caroteno é considerado um valioso antioxidante, que previne contra doenças cardiovasculares, uma vez que inibe o processo de oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL).

1.3. FARINHA DO FRUTO DE INAJÁ

Os frutos de palmeiras são fontes de substâncias nutricionais de interesse tecnológico e, quando comparados aos cereais tendem a apresentar maior quantidades de substancias bioativas.

É comum devido ao teor de fibras a comercialização de farinhas feitas a partir de frutos convencionais, como de banana verde, maçã, laranja entre outros. Estas farinhas podem ser usadas como ingredientes em várias formulações de alimentos como aditivos ou adicionadas junto a farinhas de cereais a fim de aumentar o valor nutricional.

Farinhas dos frutos de palmeiras não são comumente encontradas nos mercados globais, mas elas têm o potencial para esse fim devido às características nutricionais (fibras, proteínas, bioativos) (CARPINÉ et al., 2019; RESENDE et al., 2019). Seguindo a tendência das farinhas de frutos convencionais, as farinhas dos frutos de palmeiras se tornaram foco de pesquisas e já podem ser encontradas em alguns mercados locais. De forma geral, estas farinhas podem ser consideradas uma ótima alternativa para a expansão do mercado de produtos perecíveis (ou seja, o próprio fruto).

Em um estudo anterior foi identificado a fração amilácea na polpa madura de inajá, cerca de 4,61% de amido (SANTOS et al., 2017). Na pesquisa atual realizada por Barbi et al.

(2020), também foi quantificado amido nas farinhas de inajá, tanto nas farinhas imaturas (9,13%) quanto na madura (8,72%). Sendo assim, esta característica pode ser um indicativo para futuros uso do inajá na produção de farinhas.

Além das farinhas integrais da polpa de inajá, vale destacar a importância de estudar também as farinhas desengorduradas originadas após o processo de extração de seu óleo. Todas as amostras de farinhas de inajá analisadas por Barbi et al. (2020) identificaram e quantificaram 6 compostos bioativos, sendo eles o ácido gálico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido siríngico, ácido ferulico, ácido m-cumárico, e ácido p-cumárico.

De forma geral, as farinhas a partir dos frutos de palmeiras e seus sub-produtos (farinha desengordurada) vem despertando interesse em diferentes segmentos industriais. No entanto, há necessidade de mais pesquisas que investiguem a segurança do consumo dessas farinhas. Por se tratarem de matérias-primas pouco consumidas ou, na maioria dos casos, não consumidas por humanos, pouco se sabe sobre seus efeitos na saúde humana. A composição dessas farinhas também deve ser explorada mais detalhadamente, a fim de se conhecer melhor seus constituintes e identificar quais compostos estão envolvidos nos efeitos fisiológicos observados com sua ingestão.

1.4. TECNOLOGIA DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS

1.3.1. Extração por solventes orgânicos

Dentre os métodos utilizados em processo de separação, a extração por solventes orgânicos é um processo comumente empregado para a obtenção de extratos de grãos, oleaginosos, tecidos biológicos, devido a sua natureza lipossolúvel (SAINI; KEUM, 2016). Uma técnica de extração por solventes orgânicos muito utilizada é por extrator Soxhlet, desenvolvida em 1879 por Von Soxhlet e desde então vem sendo adotada, devido a sua

performance e eficiência, usada também como método comparativo (LUQUE DE CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998).

O sistema convencional de Soxhlet (**Figura 1.3**) é composto por um extrator Soxhlet, acoplado na base a um balão contendo solvente, colocado sobre uma chapa de aquecimento e no topo, o extrator é acoplado a um condensador. No interior do extrator, a amostra sólida é acomodada envolta por um material poroso (cartucho de celulose). Com o aquecimento, o solvente no balão atinge o ponto de ebulição e o vapor gerado condensa quando entra em contato com o fluido refrigerante acima do extrator. Ao se condensar, o solvente precipita sobre a amostra e, gradativamente, o volume do precipitado se acumula no extrator. Ao atingir o nível do cotovelo sifão, o solvente precipitado retorna ao balão e carrega consigo o material solúvel extraído. O ciclo se repete, com o solvente novamente sendo destilado, a operação pode ser repetida várias vezes até a completa extração dos compostos solúveis (LUQUE DE CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998; LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010; WANG; WELLER, 2006).

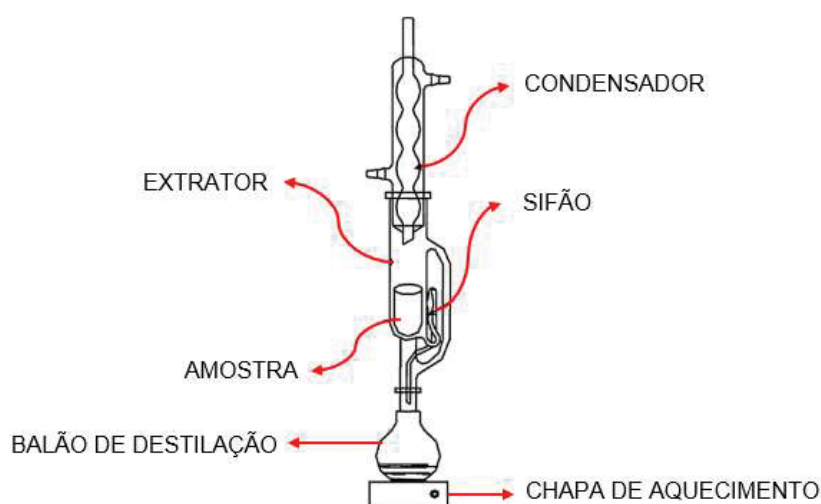


Figura 1.3. Extrator Soxhlet convencional.

FONTE: Adaptado de Castro; Priego-Capote (2010).

Os solventes mais utilizados são os álcoois (etanol e metanol), os hidrocarbonetos alifáticos (éter de petróleo e o n-hexano), cetonas (acetona e metiletilcetona), ácido acético, acetato de etila, éter etílico e água (SIMÕES et al., 1999).

A extração de Soxhlet apresenta vantagens e desvantagem, as principais vantagens são que o solvente permanece em contato com a amostra diversas vezes, mantendo o equilíbrio da transferência; além disso o método tem baixo custo e fácil operação. Já as desvantagens incluem o longo tempo de extração; grandes volumes de solventes, necessitando de uma etapa posterior para a evaporação do mesmo (LUQUE DE CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998).

1.3.2. Extração por fluidos pressurizados

Como os processos de extração convencional demandam de muito tempo e conseqüentemente levam a um gasto maior de energia, a indústria vem buscando por processos de extração mais rápidos, com menor consumo de solvente orgânico e diminuição da carga poluente. Diante a esta problemática, o processo de extração com fluidos pressurizados tem se destacado cada vez mais como técnica alternativa para a extração de produtos naturais (POONTAWEE; NATAKANKITKUL; WONGMEKIAT, 2015).

A Figura 1.4 representa um modelo esquemático do sistema de extração por fluidos sub- e supercríticos. O sistema é composto por um extrator batelada encamisado acoplado a um banho termostático, uma válvula micrométrica do tipo agulha para controlar o fluxo na saída do extrator, uma bomba tipo seringa de alta pressão, uma bomba de deslocamento positivo, e sensores e transdutores de pressão e temperatura. Resumidamente, o processo de extração opera da seguinte forma:

- No extrator (E1), o leito fixo é formado por partículas da matriz vegetal (sementes, folhas, frutos, flores, etc);

- O solvente é alimentado no extrator por meio de um compressor ou bomba para alcançar a pressão de extração. O solvente e o extrator são aquecidos até a temperatura de extração desejada;

- Atingidas as condições de processo, as válvulas de redução de pressão são abertas para permitir o escoamento do solvente ao longo do leito, com a consequente extração do extrato.

- A separação da mistura (extrato + CO₂/propano) acontece no vaso de separação (S). Na temperatura e pressão reduzidas, o extrato precipita no separador, enquanto que o solvente livre ou com baixo teor de extrato é recirculado no sistema com estágios prévios de resfriamento e compressão. No caso de extração em pequena escala, a coleta pode ser realizada a pressão atmosférica e o solvente pode ser descartado ao ambiente (BRUNNER, 2005).

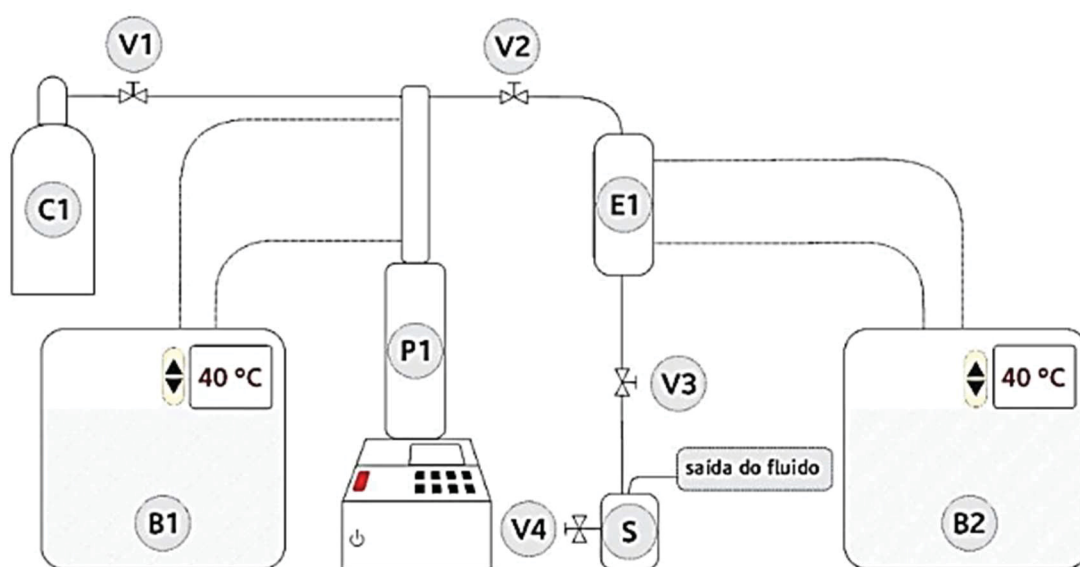


Figura 1.4. Diagrama esquemático do sistema de extração. C1: cilindro de solvente; B1 e B2: banho ultra termostático; P1: bomba do tipo seringa; E1: extrator; S: vaso de separação; V1: válvula de esfera; V2 e V3: válvula de agulha; V4: válvula de agulha micrométrica; linhas pontilhadas: fluidos de troca de calor.
FONTE: TEIXEIRA et al., (2018a).

Dentre os solventes utilizados na extração supercrítica, o fluido mais utilizado é o dióxido de carbono (CO₂), devido as suas propriedades críticas baixas (31,1 °C e 73,8 bar) e alta seletividade, o que faz ser considerado um solvente ideal para extrair componentes

bioativos, além de não ser tóxico, não explosivo e de fácil disponibilidade (NASCIMENTO et al., 2016; SAHENA et al., 2009).

Utilizado como fluido supercrítico em diversas pesquisas, o propano, não apresenta o mesmo comportamento que o CO₂; entretanto, também dispõe de brandas temperaturas e pressão crítica (97 °C e 41,9 bar). Pesquisas anteriores mostraram que o propano apresentou maior poder de extração, resultando em maior rendimento dos extratos de algumas matrizes vegetais, quando comparado com o CO₂ (FREITAS et al., 2008; HAMDAN et al., 2008; ILLÉS et al., 2000).

Outro método de extração não convencional promissor para obtenção de extratos ricos em compostos bioativos, é o método de extração com líquido pressurizado (PLE – pressurized liquid extraction). A técnica consiste em usar diferentes solventes orgânicos sob condições controladas e elevadas de temperatura e pressão, com o objetivo de obter compostos de interesse em um curto período de tempo e com reduzida utilização de solvente (CAMEL, 2001; DE MELLO et al., 2019; DE SOUZA et al., 2019).

A **Figura 1.5** representa um modelo esquemático do sistema de extração por líquidos pressurizados. O sistema é composto por um reservatório para o solvente, uma bomba de deslocamento positivo de alta pressão, uma válvula agulha para interromper o fluxo, um recipiente de pré-aquecimento, uma célula de extração de aço inoxidável com camisa de aquecimento para controle de temperatura, seguido por um vaso refrigerador acoplado a um banho de temperatura controlada. Resumidamente, o processo de extração consiste em adicionar a amostra no extrator, formando um leito fixo de extração, o qual é aquecido e pressurizado até atingir condição (pressão e temperatura) desejada. O solvente usado é pré-aquecido e bombeado para dentro do leito. Seguido por um período de extração estática, e então se inicia o processo de extração controlando a vazão do solvente. Como é utilizado solvente líquido nesta técnica, o composto de interesse encontra-se no estado líquido no final da

extração, sendo assim é necessário a separação do extrato por evaporação, secagem em estufa ou liofilização, da mesma forma que nas técnicas convencionais (SOUZA et al., 2019).

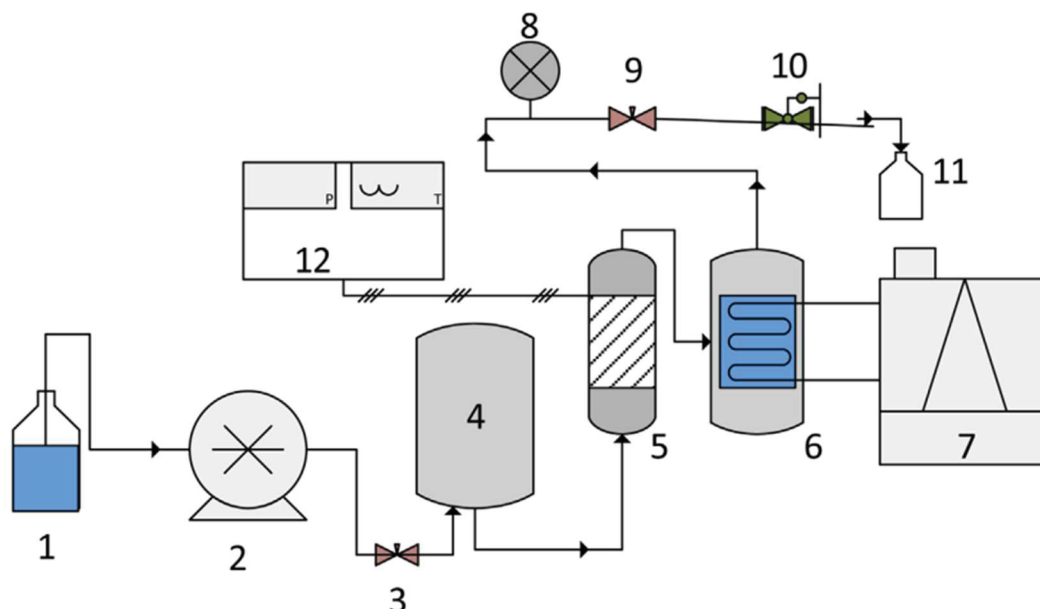


Figura 1.5. Diagrama esquemático do sistema de extração. 1: reservatório do solvente; 2: bomba de deslocamento positivo de alta pressão; 3: válvula agulha on-off; 4: recipiente de pré-aquecimento; 5: célula de extração com controle de temperatura; 6: vaso refrigerador; 7: banho com temperatura controlada; 8: manômetro; 9: válvula agulha de controle de pressão; 10: válvula de contrapressão; 11: recipiente coletor do extrato final; 12: sensores de pressão e temperatura.

FONTE: SOUZA et al. (2019).

Uma das vantagens de utilizar esta técnica não convencional é a possibilidade de utilização de temperaturas acima do ponto de ebulição do solvente, mantendo-o em estado líquido ao ser pressurizado. De forma geral, a extração com líquido pressurizado, assim como a tecnologia sub e supercrítica, utiliza ambiente livre de oxigênio e luz o que tem colaborado com a sua ampla aplicação na obtenção de compostos nutracêuticos (MUSTAFA; TURNER, 2011; STALIKAS, 2007).

1.5. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS DE INAJÁ

Para a caracterização de óleos, diversas técnicas analíticas podem ser utilizadas. A qualidade dos óleos geralmente é verificada por meio das análises que avaliam seu perfil físico-químico (acidez, grau de oxidação, insaturações, estabilidade oxidativa, entre outros). Já a

composição química dos óleos podem ser avaliadas através da cromatografia gasosa, que fornece o perfil de ácidos graxos e seus outros componentes, ou por cromatografia líquida de alta eficiência, que é capaz de verificar o perfil de triacilgliceróis (GUEDES et al., 2017; ZANQUI et al., 2016)

O comportamento térmico dos óleos pode ser avaliado pela análise termogravimétrica (TGA), técnica em que a variação de massa de uma amostra é medida em função da temperatura (aquecimento ou resfriamento) ou do tempo. A atmosfera na qual a matriz será exposta ao contato e a programação controlada de temperatura são previamente estabelecidas (IONASHIRO, 2004). A termogravimetria derivada (DTG), é um recurso matemático que é utilizada para fornecer a derivada primeira da curva TG em função do tempo ($\Delta m/\Delta t$) ou da temperatura ($\Delta m/\Delta T$). As áreas dos picos sob a curva DTG é proporcional a perda de massa durante um evento térmico (ANDRADE et al., 2013).

Alimentos de origem vegetal podem ser fontes ricas em compostos bioativos que apresentam propriedades antioxidantes e contribuem com a diminuição do estresse oxidativo causado pelos radicais livres. As técnicas analíticas de verificação da atividade antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP) e de quantificação dos compostos fenólicos totais (Folin- Ciocalteu) tem sido utilizada como meio de avaliar a contribuição dos compostos bioativos presentes naturalmente ou adicionados em óleos vegetais (AZHARI et al., 2014; FETZER et al., 2018; TEIXEIRA et al., 2017).

1.6. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DAS FARINHAS E SUBPRODUTOS

Para caracterização das farinhas integrais e seus subprodutos obtidos após a retirada do óleo, diferentes técnicas analíticas são usadas e geram informações de importância para a indústria. A termogravimetria (TGA) por exemplo, é usada afim de avaliar a estabilidade térmica, decomposição e oxidação da matéria orgânica (TEIXEIRA et al., 2018c).

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica usada em amostras de farinhas e amidos com o intuito de diferenciar o tamanho e forma de partículas e grânulos amiláceos, sendo que, fontes distintas tendem a apresentar formatos e diâmetros médios diferentes umas das outras (SINGH et al., 2003). Dados sobre o tamanho médio de partícula fornece a indústria uma ideia do grau de homogeneização dos grânulos de amido, contribuindo com uma possível aplicação dessas matrizes estudadas.

Outras técnicas que também podem ser usadas na caracterização estrutural de farinhas e amidos é a difração de raios-X (DRX), o infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), e técnicas calorimétricas. As técnicas de determinação de compostos fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e métodos antioxidantes (por exemplo DPPH, ABTS e FRAP), são usados na quantificação dos compostos bioativos contidos nas farinhas (RESENDE et al., 2019). A cromatografia líquida de ultra eficiência também é usada na identificação dos ácidos fenólicos, flavonoides, carotenoides. As informações obtidas a partir das técnicas analíticas supracitadas podem ajudar no direcionamento correto dos óleos provenientes de matrizes não convencionais para serem aplicados em alimentos, fármacos ou cosméticos.

CAPÍTULO 2

Extração do óleo de inajá (*Maximiliana maripa*) de alta qualidade usando propano subcrítico

O conteúdo desse capítulo foi publicado integralmente na *Journal of Supercritical Fluids* e sua formatação segue as normas do referido periódico (Anexo I).

CAPÍTULO 2 – EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE INAJÁ DE ALTA QUALIDADE USANDO PROPANO SUBCRÍTICO

RESUMO: A *Maximiliana maripa* é uma importante palmeira nativa Brasileira, cujos frutos apresentam polpa e amêndoas oleosos. Este estudo teve como objetivo obter o óleo da polpa de inajá (OPI) por extração subcrítica de propano e comparar com a extração convencional de Soxhlet. As extrações subcríticas de propano foram realizadas em diferentes condições para investigar os efeitos da temperatura e pressão no rendimento, composição química e compostos bioativos do óleo. O propano subcrítico forneceu extrações rápidas e altos rendimentos, atingindo até 28,66% a 313 K e 6 MPa. O OPI apresentou alta qualidade com uma rica composição de ácidos oleico e palmítico, compostos fenólicos, β -caroteno, atividade antioxidante e excelente estabilidade térmica, mostrando grande potencial para uso nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

Palavras-chave: Compostos bioativos, rendimento do óleo, óleo de inajá, alta estabilidade térmica, ácido oleico.

2.1. INTRODUÇÃO

Os biomas brasileiros possuem um número significativo de palmeiras nativas valiosas, e as pesquisas envolvendo diferentes espécies vegetais fornecem resultados que ajudam a compreender melhor suas características, consequentemente contribuindo para a preservação de sua biodiversidade. Os frutos da Amazônia, como bacaba (*Oenocarpus bacaba*), pupunha (*Bactris gasipaes*) e tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) atraíram a atenção das indústrias devido às propriedades nutricionais e bioativas dos óleos extraídos das sementes e polpas (DOS SANTOS, et al., 2015). A palmeira, *Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude, da família Arecaceae, pertence as árvores nativas encontradas na Amazônia brasileira, como as outras espécies (por exemplo, *Euterpe oleracea* e *Orbignya speciosa*), e são uma das fontes mais comuns de sementes utilizadas pelas comunidades amazônicas (FERNÁNDEZ et al., 2016).

Popularmente conhecida como inajá, a *Maximiliana maripa* é nativa do norte do Brasil, encontrada principalmente no estado do Pará, Amazonas e Maranhão (BEZERRA, 2011). Está também presente em outros países, como na Venezuela, Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Suriname e Peru (ARAÚJO; LEITÃO; MENDONÇA, 2000; CAVALCANTE, 1991). As polpas do fruto da palmeira do inajá são comestíveis e no estágio de maturação maduro são de coloração laranja. Além disso, o fruto pode ser consumido *in natura*, cozido e também pode ser usado no preparo de uma bebida tradicionalmente conhecida como vinho de inajá (SHANLEY; MEDINA, 2005). O palmito do inajá é utilizado como alimento animal, pois contribui para engordar e aumentar a produção de leite (SHANLEY; MEDINA, 2005). O potencial industrial desta palmeira reside no óleo comestível obtido da castanha do fruto, que contém cerca de 60% de óleo (BEZERRA, 2011). No entanto, a polpa de inajá também possui quantidades significativas de óleo. Trabalhos anteriores indicaram um rendimento de 23% de óleo da polpa de inajá obtido por prensa mecânica (SHANLEY; MEDINA, 2005), enquanto a extração de Soxhlet com *n*-hexano forneceu um rendimento de 35% (SANTOS, et al., 2017).

Existem diferentes processos de extração para a recuperação de óleos vegetais, incluindo os convencionais (Soxhlet, Bligh & Dyer, Prensagem) e os processos não convencionais (fluidos pressurizados). Os métodos tradicionais de extração estão sendo desencorajados porque envolvem grandes quantidades de solventes orgânicos, longo tempo de extração seguido de etapas adicionais necessárias para separar o óleo e o solvente, que geralmente são caros e potencialmente prejudiciais ao produto final (DE SOUZA et al., 2018; TEIXEIRA; GHAZANI; et al., 2018). Técnicas não convencionais como extração de fluidos pressurizados foram amplamente utilizadas para a obtenção de óleos vegetais, e são consideradas limpas, porque ao final do processo o solvente é completamente removido liberando a pressão no sistema, permitindo também sua recuperação. Além disso, a extração pode ser realizada a baixa temperatura, o que é uma vantagem importante na indústria de

extração de óleos (CUCO; CARDOZO-FILHO; SILVA, 2019; DE SOUZA et al., 2018; TEIXEIRA; GHAZANI; et al., 2018a).

Um dos fluidos mais comuns usados na extração de fluidos pressurizados é o dióxido de carbono (CO_2) (ponto crítico: 304,25 K e 7,39 MPa), principalmente por não ser tóxico, não explosivo, não inflamável e seguro para uso em processos alimentares (CUCO; CARDOZO-FILHO; SILVA, 2019). No entanto, seu uso está associado à baixa solubilidade dos triacilgliceróis. Assim, pressões relativamente altas e longos tempos de extração são necessários para fornecer rendimentos satisfatórios (TRENTINI; SANTOS; et al., 2017). Por outro lado, o propano (ponto crítico: 369,82 K e 4,25 MPa), proporciona maiores rendimentos de extração devido ao seu alto poder de solvatação em relação aos triacilgliceróis a pressões mais baixas quando comparado ao CO_2 supercrítico. O uso de propano é considerado seguro para extrações porque nenhum resíduo tóxico permanece no produto final. No entanto, é inflamável e requer que a extração seja realizada em instalações à prova de explosão (SEKHON; MANESS; JONES, 2016). O uso de propano sob suas condições supercríticas também é desnecessário, pois altas taxas de extração podem ser alcançadas sob condições moderadas de pressão e temperatura (JESUS et al., 2013; NDIAYE et al., 2006; SANTOS, et al., 2015). Além disso, o propano é mais eficiente que o CO_2 na extração de compostos ativos, como fitoesteróis, tocoferóis e carotenóides, fornecendo também extratos com alta estabilidade térmica (SHI et al., 2014; SILVA, et al., 2015).

Alguns estudos usando fluidos pressurizados na extração de óleo de frutos de palmeiras brasileiras incluem bacaba-de-leque (*Oenocarpus distichus* Mart.)(CUNHA et al., 2018), açaí (*Euterpe oleracea*) (BATISTA et al., 2016), macaúba (*Acrocomia aculeata*) (TRENTINI; SANTOS; et al., 2017) e babaçu (*Orbignya phalerata*) (DE OLIVEIRA et al., 2019). A literatura relatou a extração de óleo de *Maximiliana maripa* por diferentes métodos como prensa mecânica, prensa hidráulica, Bligh and Dyer e Soxhlet usando solventes orgânicos (ARAÚJO;

LEITÃO; MENDONÇA, 2000; BEZERRA, 2011; CAVALCANTE, 1991; SHANLEY; MEDINA, 2005). No entanto, faltam informações sobre a extração de óleo de polpa de inajá usando propano pressurizado. Assim, este estudo objetivou obter óleo de polpa de inajá por meio de propano subcrítico e investigar os efeitos da temperatura e pressão sobre as características dos óleos extraídos. A técnica convencional de Soxhlet usando *n*-hexano e éter de petróleo também foi realizada e usada como referência para comparação com as extrações por solvente comprimido. Além disso, as amostras de óleo foram analisadas quanto à composição de ácidos graxos, qualidade lipídica, decomposição térmica, conteúdo de β -caroteno, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Amostras de inajá

Os frutos do inajá (*Maximiliana Maripa* (Aubl.) Drude) foram coletados no mês de maio de 2018 em uma área rural localizada na cidade de Breu Branco, Estado do Pará, Brasil (Latitude: 3 °44'14,2 "S; Longitude: 49 °28'27,8" W). Os frutos inteiros foram higienizados com solução de hipoclorito de sódio (200 ppm), em seguida, as polpas de inajá foram separadas das sementes e então liofilizadas (Liotop L101, Liobras, Brasil). As amostras de polpa secas foram moídas em um processador de alimentos doméstico. Depois disso, a matéria-prima foi classificada utilizando diferentes peneiras da série Tyler acopladas a um agitador mecânico eletromagnético (Produtest, São Paulo, Brasil). O diâmetro médio das partículas foi estimado pelo método descrito por Souza et al. (DE SOUZA et al., 2018), considerando as frações de massa do material retidos nas seguintes peneiras: malha 8 (45,07%), malha 12 (14,08%), malha 20 (9,76%), malha 24 (16,84%), 32 malha (9,84%), malha 48 (3,23%) e fundo (20,63%). Todas as frações foram misturadas e o material foi acondicionado em sacos de polietileno de baixa densidade, selado sob vácuo e armazenado em freezer a 255 K até o uso. O teor de umidade da

polpa de inajá foi determinado por secagem em estufa a 378 K até massa constante, de acordo com o método 930.15 da AOAC (AOAC, 2000).

2.2.2. Extração do óleo da polpa de inajá

Para obter o óleo da polpa de inajá, foram utilizados dois métodos diferentes de extração: extração subcrítica de propano (OIP1 a OIP5) e Soxhlet usando *n*-hexano (OISH) e éter de petróleo (OISP). Todas as condições usadas nas extrações estão resumidas na **Tabela 2.1**.

2.2.2.1. Extração por soxhlet

As extrações por Soxhlet foram realizadas de acordo com o método 920.39 da AOAC (AOAC, 2000), utilizando 5 g de amostra e 200 mL de solvente (*n*-hexano ou éter de petróleo) durante 360 min. O solvente foi removido a 316,15 K sob pressão reduzida usando um evaporador rotativo (Modelo 801, Fisatom Ltda., Brasil) e depois colocado em um forno de circulação de ar a 333,15 K até massa constante. O óleo foi mantido em um recipiente de vidro âmbar e armazenado a 268,15 K até as análises posteriores.

2.2.2.2. Extração com propano subcrítico

As extrações foram realizadas no Laboratório de Cinética e Termodinâmica Aplicada (LACTA) na UFPR usando uma unidade de extração supercrítica em escala de bancada (volume interno de $8,0 \times 10^{-5} \text{ m}^3$, $L = 0,16 \text{ m}$, $\Phi = 2,52 \times 10^{-2} \text{ m}$) descrita em detalhes em estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa (TEIXEIRA et al., 2018a; CORREA et al., 2016). Sucintamente, o sistema experimental consiste em um vaso revestido (extrator) com um banho ultra-termostático para controle de temperatura, uma válvula agulha para controlar a taxa de fluxo de solvente no interior do extrator, uma bomba de seringa (ISCO, modelo 500D, Lincoln,

NE, EUA) e sensores de pressão e temperatura. A temperatura na bomba de seringa foi mantida em 283 K para todas as condições experimentais usando outro banho ultra-termostático. Foi utilizado propano com 99,5% de pureza (White Martins S.A., Araucária, PR, Brasil). Resumidamente, 20 g da matéria-prima foram colocados no interior do extrator, e em seguida o extrator foi preenchido com propano, uma vez que o extrator tenha sido completado com o amostra e o solvente, sob pressão e temperatura desejadas, o tempo de extração estática começou (período de confinamento. Após o período estático (o qual foi fixado em 60 min), a extração dinâmica foi iniciada usando uma taxa de fluxo de propano comprimido em torno de $2,0 \pm 0,2 \text{ mL min}^{-1}$, para todas as condições de extração. Para determinar a influência de dois fatores principais (temperatura e pressão), utilizou-se um delineamento experimental fatorial simples, com triplicata no ponto central (**Tabela 2.1**). O óleo extraído da polpa de inajá foi coletado à pressão atmosférica e à temperatura ambiente (293,15 K) em tubos de ensaio de 10 mL e pesando em intervalos de tempo de 5 min de extração. O rendimento foi calculado como a razão entre a massa de óleo extraída e a massa inicial de polpa de inajá.

2.2.3. Caracterização do óleo

2.2.3.1. Composição em ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos do óleo da polpa de inajá foi analisado usando por cromatografia a gás - Shimadzu (GC 2010 Plus), uma coluna capilar (SH-Rtx-Wax, Shimadzu, $30 \text{ m} \times 0,32 \text{ mm} \times 0,25 \text{ m}$), detector de ionização de chama (FID) e modo de injeção dividida (1:10). As temperaturas do injetor e do detector (FID) foram de 513 K e 523 K, respectivamente. A temperatura do forno foi ajustada para começar a 373 K, mantida por 5 min. Depois disso, a temperatura do forno foi aumentada até 513 K a uma taxa de 277 K min^{-1} e mantida por 5 min. Hélio foi usado como gás de arraste a uma velocidade média de $32,5 \text{ cm min}^{-1}$. As amostras foram preparadas de acordo com o método oficial AOCS Ce 2-66 para converter os óleos em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) (AOCS, Official Methods and Recommended

Practices of the American Oil Chemists' Society, 1997). As FAMES foram identificadas por comparação com os tempos de retenção da mistura padrão de FAMES (Supelco, MIX FAME 37, St. Louis, MO 63103, EUA). As áreas de picos foram determinadas pelo CG-2010. Os resultados foram expressos como porcentagem de área normalizadas dos ácidos.

2.2.3.2. Qualidade lipídica dos óleos da polpa de inajá

A qualidade lipídica do óleo da polpa de inajá foi avaliada utilizando quatro índices de qualidade das frações lipídicas, os quais foram calculados com base na composição de ácidos graxos. A razão entre ácidos graxos saturados/ insaturados foi calculada. A razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (H/H) foi obtida de acordo com as seguintes equações (CUNHA et al., 2018; SANTOS-SILVA; BESSA; SANTOS-SILVA, 2002):

$$H/H = \frac{C18:1\omega9 + C18:2\omega3 + C18:3\omega6}{C14:0 + C16:0} \quad (1)$$

De acordo com as fórmulas propostas por Ulbrich e Southgate (ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991), foram calculados o índice de aterogenicidade (AI) e o índice de trombogenicidade (TI):

$$AI = \frac{C12:0 + 4(C14:0) + C16:0}{\sum MUFA \quad \sum \omega-6 + \sum \omega-3} \quad (2)$$

$$TI = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{0.5(\sum MUFA) + 0.5(\sum \omega-6) + 3(\sum \omega-3) + (\sum \omega-3 / \omega-6)} \quad (3)$$

Onde C12: 0 é ácido láurico, C14: 0 é ácido mirístico, C16: 0 é ácido palmítico, C18: 0 é ácido esteárico, C18: 1 ω 9 é ácido oleico, C18: 2 ω 6 é ácido linoléico e C18: 3 ω 3 é ácido linolênico; MUFA é a soma dos ácidos graxos monoinsaturados.

2.2.3.3. Decomposição térmica dos óleos de inajá

A avaliação da estabilidade térmica dos óleos das polpas de inajá foi realizada pelas curvas termogravimétricas obtidas com o equipamento TGA 4000 (PerkinElmer Inc. Waltham, MA, EUA). As amostras de óleo (10 mg) foram colocadas na panela de platina e depois em um forno, foram aquecidas de 303 K a 1023 K (283 K min^{-1}) em atmosfera de ar sintético com fluxo de 50 mL min^{-1} . Os dados da perda de massa dos respectivos óleos foram adquiridos usando o PyrisTM. As curvas termogravimétricas (TG) e derivadas termogravimétricas (DTG) foram analisadas usando o *software* Origin 8.6 (OriginLab, Massachusetts, EUA).

2.2.3.4. Composição química por cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas

A composição química do óleo da polpa de inajá foi analisada por CG-MS (Shimadzu TQ8040). Todas as amostras foram solubilizadas em diclorometano de grau espectroscópico (99,9% de pureza, Sigma – Aldrich) na concentração de 1 mg mL^{-1} . Utilizou-se uma coluna capilar não polar HP-5MS ($30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm id}$, espessura de filme de $0,25 \mu\text{m}$, fenil a 5% / dimetilpolisiloxano a 95%). Utilizou-se o hélio como gás de arraste e o volume de injeção foi de $1,0 \mu\text{L}$. As temperaturas da fonte e do quadrupolo foram 503,15 K e 423,15 K, respectivamente. O espectrômetro de massa foi programado para varrer de 40,0 a 1000,0 m/z. A temperatura inicial da coluna foi de 323,15 K e mantida por 1 min, esta temperatura aumentou a uma taxa de $275,15 \text{ K min}^{-1}$ até 473,15 K e foi mantida por 1 min. Os compostos presentes nas amostras de óleo foram identificados com base no banco de dados da biblioteca NIST-14, comparando seus índices de retenção (RIs), com uma série homóloga de n-alcanos (C8-C40).

2.2.3.5. Conteúdo total de β -caroteno

A quantificação do conteúdo total de β -Caroteno foi determinada usando o método proposto por YOUNG; BRITTON (1993), adaptado por CUCO et al (2019a). Uma alíquota de 10 mg de cada óleo foi solubilizado em 10 mL de n-hexano. A solução foi monitorada sob absorvância de 450 nm através de um espectrofotômetro UV-vis (Spectro 3000W, Marte Científica, Brazil). O conteúdo total de β -Caroteno foi calculado por meio da Eq. 4, e os resultados foram obtidos em triplicata e expressos em mg total de β -Caroteno por 100 g de óleo.

$$\text{total } \beta\text{-Caroteno} = \frac{(Abs.Vol.10^3)}{E_{1cm}^{1\%} . W} \quad (4)$$

Onde Abs é absorvância em 450 nm; Vol é o volume da diluição (mL) e $E_{1cm}^{1\%}$ é o coeficiente de extinção (2592) de β -Caroteno em n-hexano proposto por MAIA et al. (2017) e W é a massa da amostra (g).

A análise de variância foi utilizada para avaliar o efeito das variáveis independentes (temperatura e pressão) sobre o conteúdo de β -caroteno usando o modelo matemático expresso pela Eq. (5):

$$R_i = \beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 P + \beta_{12} TP \quad (5)$$

Onde R_i é a resposta; β_0 é a constante; β_1 , β_2 e β_{12} são os termos de regressão; T é a temperatura e P é a pressão.

2.2.3.6. Extração dos compostos fenólicos

Os extratos fenólicos do óleo da polpa de inajá foram obtidos de acordo com a metodologia descrita por Teixeira et al. (2017) com pequenas modificações. Uma alíquota de 1

g de cada amostra de óleo foi dissolvida em 3 mL de metanol-água (90:10, v/v), seguida de agitação em *vórtex* por 4 min e centrifugação por 15 min a 3493 g. O procedimento de extração foi realizado três vezes para cada óleo; os sobrenadantes foram combinados e analisados sequencialmente para avaliação dos compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante.

2.2.3.7. Quantificação dos compostos fenólicos totais

O conteúdo total de compostos fenólicos foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Singleton e Rossi (1965), adaptado por Barbi et al. (2018) com algumas modificações. Em uma microplaca de 96 poços, foram adicionadas alíquotas de 15 µL dos diferentes extratos, obtidos de acordo com a seção 2.2.3.6, à 240 µL de água destilada e 15 µL de reagente Folin-Ciocalteu. Após três minutos, foram adicionados 30 µL de uma solução saturada de carbonato de sódio e as amostras foram mantidas no escuro por 1 h à temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 720 nm em um leitor de microplacas (Tecan Nanoquant Infinite® M200, Tecan Trading AG, Suíça). Os resultados foram obtidos em triplicata e apresentados como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de óleo.

2.2.3.8. Atividade antioxidante *in vitro*

O ensaio de eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazil) foi realizado seguindo o método proposto por Brand-Williams et al. (1995). A atividade de eliminação de ABTS (ácido 2,2'-Azino-bis (ácido 3-etilbenztiazolina-6-sulfônico)) dos extratos de óleo foi realizada usando o método descrito por Re et al. (1999). O potencial antioxidante total dos extratos dos óleos também foi analisado usando o teste de poder antioxidante de redução férrica (FRAP), reportado por Benzie e Strain (1996). Esses três diferentes métodos são detalhados anteriormente (Barbi et al., 2018), e as absorbâncias foram monitoradas usando um leitor de microplacas a 517 nm, 734 nm e 593 nm para DPPH, ABTS e FRAP, respectivamente. Os

resultados foram obtidos em triplicata e expressos em μmol equivalente de Trolox por 100 g de óleo.

2.2.4 Análise Estatística

Os resultados obtidos em triplicata neste estudo foram analisados estatisticamente usando o software Statistica 10.0 (StatSoft, Inc, Tulsa, OK, EUA), e cada resposta foi avaliada independentemente. Os dados experimentais foram analisados quanto à variância (ANOVA) e o teste de Duncan foi utilizado para comparações múltiplas das médias com nível de confiança de 95% (valor de $p < 0,05$). O efeito das variáveis independentes no conteúdo de β -caroteno foi avaliado pela metodologia da superfície de resposta e ANOVA. Os gráficos foram criados usando o software Origin 8.6 (OriginLab, Northampton, MA, EUA).

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. Rendimento da extração

As extrações foram realizadas usando $20 \pm 0,2$ g de polpa seca triturada de inajá com um teor de umidade de $11,71 \pm 0,29\%$. O diâmetro médio das partículas foi de aproximadamente $1,57 \times 10^{-3}$ m. A **Tabela 2.1** mostra as condições experimentais usadas para a extração do óleo da polpa de inajá (IPO) usando propano subcrítico, n-hexano e éter de petróleo como solventes. Além disso, a **Tabela 2.1** apresenta uma comparação dos rendimentos de extração em comparação com o valor obtido com o solvente éter de petróleo no aparelho Soxhlet como referência, adotado como 100% de recuperação, para calcular a eficiência de extração do propano.

As curvas de extração cinética obtidas com propano subcrítico são apresentadas na **Fig.2.1** em diferentes condições de temperatura e pressão. Para todas as condições de processo

avaliadas, o óleo foi extraído principalmente nos primeiros 30 minutos, com uma taxa de extração constante. Durante esse período, o rendimento da extração aumentou quase linearmente ao longo do tempo, devido à transferência de massa ser facilitada pela extração de óleo disponível gratuitamente na superfície das partículas (SPARKS et al., 2006). Isto é seguido pelo período de transição com a taxa de extração decrescente de até 40 min; onde ambos os efeitos convectivos na fase fluida e a fase difusional na fase sólida determinam a taxa de extração e, finalmente, atingem a etapa controlada por difusão (SILVA et al., 2019).

Table 2.1. Condições experimentais e resultados da extração do óleo da polpa de inajá (*Maximiliana maripa*) usando propano comprimido, *n*-hexano, e éter de petróleo.

Amostras	Método	Solvente	T (K)	P (MPa)	Densidade (kg/m ³)**	Densidade (kg/m ³ ***)	S/F (kg solvente/kg alimentação) [#]	Tempo de extração (min)	Rendimento (wt%) ^b	Eficiência (%) ^c
OIP1	Extração com Fluido Subcrítico	Propano	293,15	2	503,31	517,93	5,70:1	110	25,69	84,70
OIP2		Propano	293,15	10	521,29	533,44	5,85:1	110	27,33	90,10
OIP3		Propano	333,15	2	44,99	517,93	5,70:1	110	27,88	91,92
OIP4		Propano	333,15	10	467,16	533,44	5,85:1	110	27,58	90,93
OIP5*		Propano	313,15	6	484,39	526,22	5,80:1	110	28,66 ^a ± 0,54	94,49
OISH	Soxhlet	<i>n</i> -hexano	341,15	-	-	-	-	360	28,77 ^a ± 0,73	94,86
OISP	Soxhlet	Éter de petróleo	333,15	-	-	-	-	360	30,33 ^a ± 0,25	100

*Ponto central para extração subcrítica de propano.

** Dados obtidos no NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry/fluid/>) considerando as condições de extração (dentro do vaso).

*** Dados obtidos no NIST Chemistry WebBook considerando a temperatura de 283,15 K e os valores de pressão da extração (condições da bomba).

[#]Quantidade de solvente usada na extração, expressa como proporção de solvente para alimentação (S/F) calculada usando cada densidade de solvente a uma taxa de fluxo de 2,0 mL/min.

^a Média ± desvio padrão (n = 3).

^b Massa do extrato pela massa de material seco alimentado × 100 em base seca.

^c Massa do extrato obtida com os solventes no final do tempo de extração, em massa do extrato obtido com éter de petróleo na extração clássica × 100.

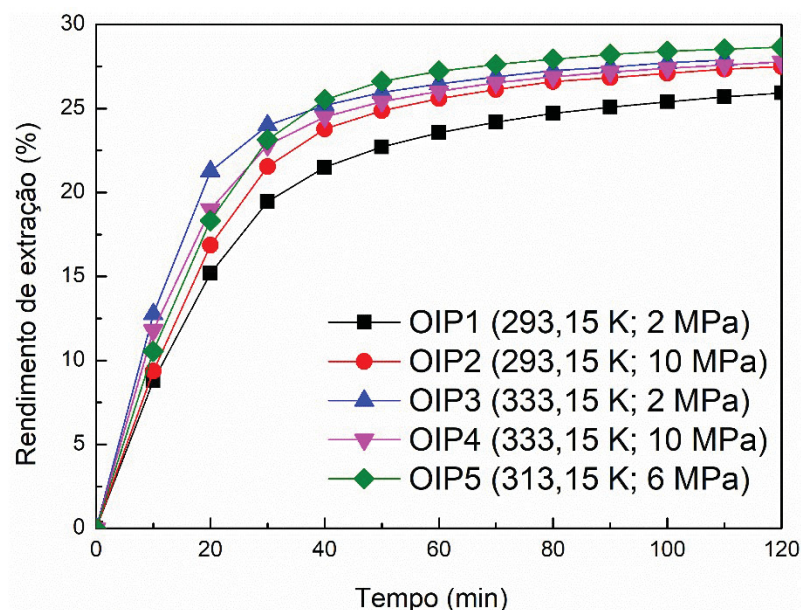


Figura 2.1. Curvas gerais de extração experimental para óleo de polpa de inajá com propano como solvente em diferentes pressões e temperaturas. FONTE: A autora (2019).

Na da **Fig. 2.1**, pode ser observado que, no início da extração, a remoção de óleo a 333,15 K e 2 MPa foi maior quando comparada às demais condições com propano subcrítico. Verificou-se que a densidade de propano na bomba (517,93-533,44 kg/m³) apresentou pequenas variações com a alteração das condições do processo, enquanto no interior do vaso (44,99-521,29 kg / m³) diminuiu com o aumento da temperatura (**Tabela 2.1**). A densidade é a propriedade termodinâmica que influencia o poder de solvência de um solvente. Geralmente, o aumento da densidade do solvente aumenta seu poder de solvatação (SILVA et al., 2019), o que também afeta o rendimento da extração. No estudo aqui relatado, verificou-se pouca influência dessa propriedade no rendimento de óleo, uma vez que a diferença entre o menor e o maior rendimento de extração foi inferior a 3%. De fato, a temperatura é o fator chave que desempenha um papel importante na recuperação de óleo de matérias-primas vegetais usando propano comprimido, conforme relatado na literatura (FETZER et al., 2018; TEIXEIRA; GHAZANI; et al., 2018). Ao avaliar a quantidade de solvente usado durante a extração, OIP2 e OIP4 mostraram um gasto maior de solvente por kg de alimentação, que consumiu aproximadamente

0,111 kg, mostrando uma relação solvente/ alimentação (S/F) de 5,85: 1, enquanto OIP1 e OIP3 gastou menos solvente que as outras amostras (**Tabela 2.1**).

O maior rendimento numérico de 28,66% foi obtido a 313,15 K e 6 MPa (condição de extração intermediária). Entretanto, aumentando 20 K e reduzindo a pressão para 2 MPa (OIP3), foi observada uma redução de aproximadamente 2,73% no rendimento da extração, mostrando que a extração com propano comprimido poderia ser operada em condições de baixa pressão. Por outro lado, o principal efeito da temperatura foi demonstrado pela extração a 293,15 K e 2 MPa, onde o menor rendimento foi aproximadamente 10% menor em comparação com a amostra OIP5. As extrações com propano subcrítico foram pouco afetadas pelas mudanças nas pressões nas condições aqui avaliadas.

Resultados diferentes ($p < 0,05$) foram encontrados ao comparar o rendimento de extração obtido no Soxhlet usando éter de petróleo (30,33%) com o do *n*-hexano (28,77%), que por sua vez foi semelhante ao resultado encontrado para a amostra OIP5 (28,66%). De acordo com Galanakis et al. (2011), a tendência de solubilidade pode ser explicada pela estrutura química de constituintes extrativos e solventes extrativos e, como resultado, pelas forças intermoleculares entre eles. O éter de petróleo é composto de hidrocarbonetos com diferentes capacidades de solubilização para vários constituintes não polares. Assim, o rendimento da extração depende da seletividade dos solventes que apresentam diferentes interações intermoleculares.

Neste estudo, a extração com propano subcrítico mostrou uma eficiência de extração similar (até 94,49%) do óleo ao obtido por Soxhlet usando *n*-hexano (94,86%). A extração com propano a 313,15 K e 6 MPa (OIP5) proporcionou uma recuperação de 94% em relação ao Soxhlet usando éter de petróleo, que foi o mesmo resultado obtido com *n*-hexano. Ao analisar as condições operacionais para uma potencial aplicação industrial futura do óleo de inajá, a técnica de extração não convencional usando propano subcrítico nesse caso específico é uma

boa opção, pois o óleo de inajá apresentou bons rendimentos e não foi necessária uma operação adicional de remoção de solvente, contribuindo para reduzir os custos operacionais.

2.3.2 Caracterização do óleo de inajá

2.3.2.1. Perfil de ácidos graxos

A composição de ácidos graxos (AG) do óleo de polpa de inajá obtido utilizando diferentes solventes é mostrada na **Tabela 2.2**. Os resultados indicam que os perfis de AGs foram quase os mesmos. Foram identificados sete AG diferentes no óleo da polpa de inajá (OPI). Os principais ácidos graxos presentes nos óleos foram os ácidos oleico (60,43-60,82%) e palmítico (19,84-20,26%). O óleo de polpa de inajá é composto principalmente de ácidos graxos insaturados (73,55-73,83%), cuja concentração foi muito superior à porção saturada (25,40-25,74%), e a presença de ácidos graxos monoinsaturados (60,43-60,82%) foi predominante em relação aos poliinsaturados (13,01-13,11%) para os óleos obtidos em todas as condições de extração.

Tabela 2.2. Perfil de ácidos graxos de óleos de polpa de inajá obtidos por propano comprimido, *n*-hexano e éter de petróleo

Ácidos graxos	Concentração de ácidos graxos (%)		
	Propano ^a 313,15 K/ 6 MPa	Soxhlet <i>n</i> -hexano	Soxhlet Éter de petróleo
Láurico (C12:0)	0,68	0,72	0,73
Mirístico (C14:0)	1,57	1,59	1,63
Palmítico (C16:0)	19,84	20,17	20,26
Esteárico (C18:0)	3,31	3,24	3,11
Oléico (C18:1)	60,82	60,43	60,47
Linoleico (C18:2)	6,68	6,47	6,77
Linolênico (C18:3)	6,33	6,38	6,33
Σ SFA ¹	25,40	25,72	25,74
Σ MUFA ²	60,82	60,43	60,47
Σ PUFA ³	13,01	13,11	13,10
Σ PUFA + MUFA	73,83	73,55	73,56

O desvio padrão para todos os ácidos graxos foi menor que 0,006.

^a ponto central para extração subcrítica de propano.

¹ ácidos graxos saturados.

² Ácidos graxos monoinsaturados.

³ ácidos graxos poliinsaturados. FONTE: A autora (2019).

De acordo com Damodaran; Parkin (2017), quantidades significativas de ácidos graxos monoinsaturados podem proporcionar alta estabilidade e sabor aos óleos e ainda são bons para o consumo animal e humano. Como mostrado na **Tabela 2.2**, o IPO apresentou altas quantidades de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), como o tipo ω -9, sendo assim podem ser consideradas uma matriz potencial para futuras aplicações industriais. A composição de ácidos graxos é extremamente importante na determinação das propriedades e benefícios dos alimentos para a saúde, especialmente a saúde cardiovascular. Dietas ricas em gorduras monoinsaturadas são recomendadas como um meio de reduzir o risco de doença cardiovascular. Tais dietas geralmente diminuem os triglicerídeos e aumentam o colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL) (APPEL et al., 2005).

Os óleos com maior concentração de MUFAs e menor concentração de ácidos graxos saturados são considerados de alta qualidade devido ao efeito benéfico dos MUFAs sobre o colesterol sérico, e a substituição dos SFAs pelos MUFAs permite a manutenção da lipoproteína

de baixa densidade (LDL) concentrações nos níveis normais de sangue (CAPORASO et al., 2015; GHANBARI et al., 2012).

Considerando essas características, o alto teor de ácidos graxos insaturados (PUFA + MUFA) confere ao óleo de polpa de inajá um alto valor nutricional, e sugere-se que o IPO também possa ser adicionado aos alimentos da mesma forma que outros óleos vegetais comestíveis.

2.3.2.2. Qualidade lipídica do óleo de inajá

A qualidade lipídica do OPI foi avaliada pela composição de ácidos graxos usando quatro índices. As razões de ácidos graxos poliinsaturados/saturados (PUFA/SFA) e hipocolesterolêmico/ hipercolesterolêmico (H/H), índice de aterogenicidade (IA) e índice de trombogenicidade (IT) são mostradas na **Tabela 2.3**.

Tabela 2.3 Índices de qualidade lipídica de óleos de polpa de inajá obtidos por propano comprimido, *n*-hexano e éter de petróleo.

Índice de qualidade lipídica	Propano 313,15 K/6 MPa	Soxhlet <i>n</i> -hexano	Soxhlet Éter de petróleo
PUFA/SFA ¹	0,52	0,51	0,51
H/H ²	3,45	3,38	3,36
IA ³	0,36	0,37	0,37
IT ⁴	0,45	0,46	0,46

¹ (razão entre ácidos graxos saturados/ insaturados).

² (razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos).

³ (índice de aterogenicidade).

⁴ (índice de trombogenicidade). FONTE: A autora (2019).

Amostras de óleo com valores inferiores a 0,45 para a razão de ácidos graxos poliinsaturados/ saturados (PUFA/SFA) são consideradas inadequadas para a dieta humana, devido à possível indução de um aumento no colesterol no sangue (HUNTY, 1995; WILLIAMS, 2003). Todo o óleo de polpa de inajá obtido a partir de diferentes técnicas de extração, utilizando diferentes solventes, apresentou valores acima do valor mínimo

recomendado, indicando que esses óleos podem ser considerados saudáveis para consumo humano, em relação à composição de ácidos graxos.

O índice de razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (H/H) apresentou valores variando de 3,36 a 3,45. Embora o índice H/H do óleo obtido com propano subcrítico tenha apresentado um valor inferior ao encontrado para o óleo de bacaba-de-leque (CUNHA et al., 2018), a relação H/H do óleo da polpa de inajá pode ser considerada adequada para efeito hipocolesterolêmico.

O índice de aterogenicidade (IA) do óleo de polpa de inajá variou de 0,36 a 0,37, e o índice de trombogenicidade (IT) variou de 0,45 a 0,46. Todos os óleos da polpa de inajá apresentaram valores inferiores a 1 para os índices de IA e IT, que é o limite adequado para uma dieta saudável. Baixos valores de IA e IT implicam em uma maior quantidade de ácidos graxos antiaterogênicos presentes em certos óleos e, conseqüentemente, maior o potencial de prevenção do aparecimento de doenças coronárias (VALFRÉ; CAPRINO; TURCHINI, 2003).

2.3.2.2. Decomposição térmica dos óleos das polpas de inajá

A curva termogravimétrica (TG) mostra a perda de massa e a curva termogravimétrica derivada (DTG) mostra a taxa de perda de massa do óleo de polpa de inajá (IPO) durante a decomposição térmica de 303 K a 1023 K por TGA sob uma atmosfera de ar sintético (**Fig. 2.2**). Os valores de perda de massa são apresentados na **Tabela 2.4**.

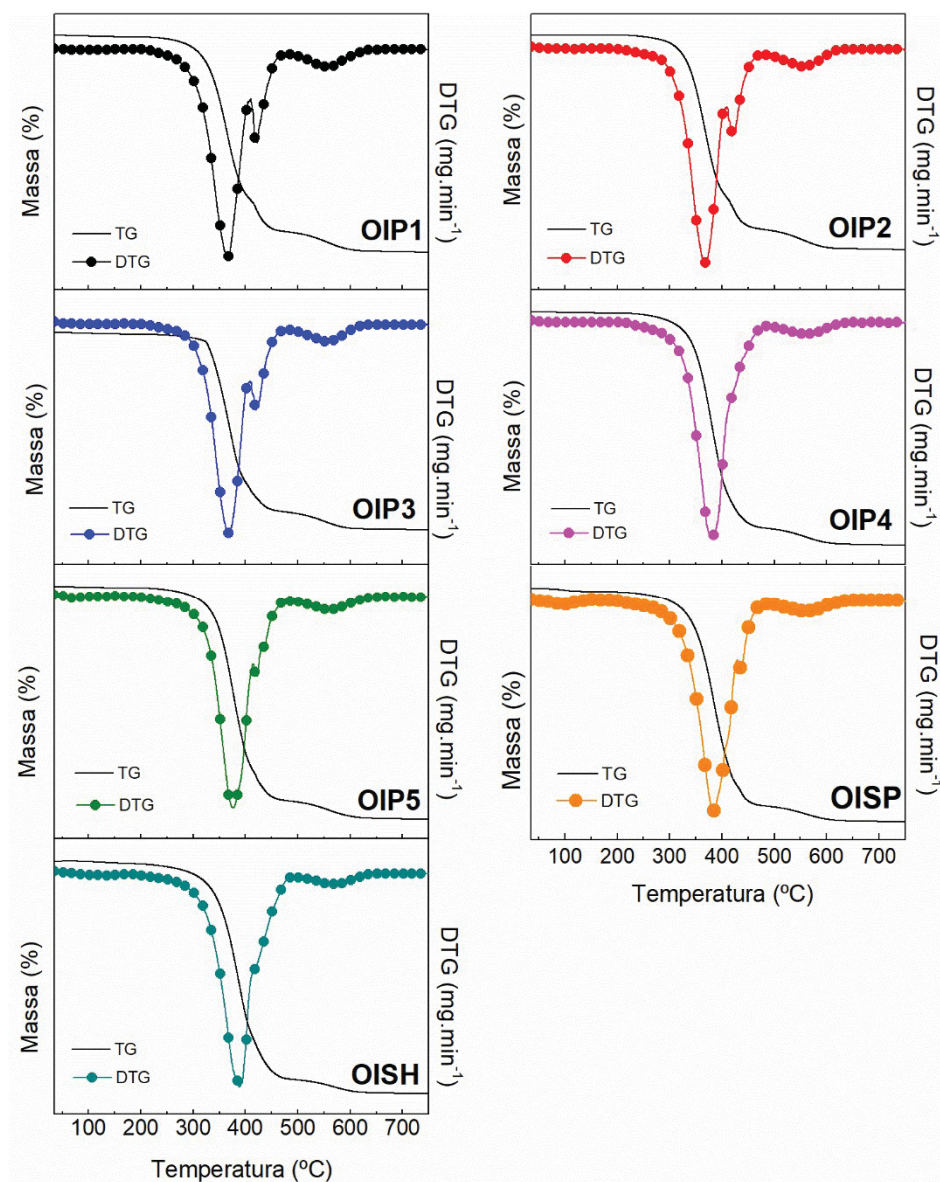


Figura 2.2 Curvas TG/ DTG de óleo de polpa de inajá obtidas usando propano subcrítico (OIP1-OIP5) e Soxhlet usando métodos de n-hexano (OISH) e éter de petróleo (OISP). FONTE: A autora (2019).

Tabela 2.4. Dados TG/DTG para cada estágio de degradação térmica dos óleos de inajá

Amostra	Condições de Extrações	Degradação Térmica	Ti (K)	Tm (K)	Tf (K)	Δm (%)
OIP1	293,15 K/2 MPa	estabilidade	302	-	523	-
		I	523	639	678	74,48
		II	678	698	728	15,34
		III	728	836	902	10,13
OIP2	293,15 K/10 MPa	estabilidade	302	-	542	-
		I	542	641	675	72,38
		II	675	697	731	16,84
		III	731	835	901	9,96
OIP3	333,15 K/ 2 MPa	estabilidade	301	-	581	-
		I	581	644	723	87,74
		II	723	832	898	9,95
OIP4	333,15 K/ 10 MPa	estabilidade	302	-	539	-
		I	539	654	738	91,60
		II	738	841	906	7,58
OIP5	313,15 K/ 6 MPa	estabilidade	302	-	535	-
		I	535	640	675	72,19
		II	675	698	733	17,24
		III	733	838	902	9,75
OISH	Soxhlet <i>n</i> -hexano	estabilidade	302	-	560	-
		I	560	660	757	90,30
		II	757	842	909	5,90
OISP	Soxhlet Éter de petróleo	estabilidade	302	-	553	-
		I	553	658	749	90,82
		II	749	838	914	6,66

Ti, temperatura inicial; Tm, temperatura máxima de perda de massa; Tf, temperatura final; Δm, perda de massa. Extração de óleo de polpa de inajá usando propano subcrítico (OIP1 - OIP5) e extração por Soxhlet (OISH-OISP). FONTE: A autora (2019).

A decomposição térmica das amostras OIP3, OIP4, OISH e OISP apresentaram em duas etapas principais, enquanto OIP1, OIP2, OIP5 apresentaram em três etapas (**Fig.2.2**). De acordo com a literatura, o primeiro passo pode ser atribuído à decomposição térmica e à fase inicial da degradação dos triglicerídeos dos ácidos graxos poliinsaturados (DINIZ et al., 2008; SANTOS, et al., 2002). A segunda e terceira etapas correspondem à decomposição de ácidos graxos monoinsaturados e saturados e outras substâncias formadas durante a polimerização dos produtos de degradação (isto é, peróxidos e hidroperóxidos) dos ácidos graxos da primeira etapa (NETO et al., 2009).

A etapa de estabilidade, que é a estabilidade térmica da matéria-prima, ou seja, quanto a amostra permanece inalterada (sem perda de massa), mostrada nas curvas TG do IPO, variou

de 523 K (OIP1) a 581 K (OIP3). Comparando as amostras extraídas a baixa pressão com propano subcrítico, observou-se que a alta temperatura (333,15 K) resultou em maior estabilidade térmica (OIP3). Por outro lado, quando as extrações foram realizadas a altas pressões (6 MPa e 10 MPa), a estabilidade térmica das amostras atingiu aproximadamente a mesma temperatura (535 K-542 K).

O óleo obtido por Soxhlet (OISH e OISP) apresentou boa faixa de estabilidade, atingindo temperaturas finais de 560 K e 553 K, respectivamente, mas essas amostras foram menos estáveis quando comparadas ao OIP3 (581 K). Também é observada maior estabilidade para os óleos da polpa de inajá em comparação com o óleo de sementes de maracujá-doce obtido nas mesmas condições de operação (propano subcrítico: 333,15 K, 2 MPa) (PEREIRA et al., 2017).

As diferenças entre os comportamentos térmicos do óleo da polpa de inajá podem estar relacionadas à composição dos ácidos graxos e à presença de outros compostos, como carotenóides, polifenóis naturais, tocoferóis, que podem proteger o óleo contra a oxidação, retardando a degradação (GAO; BIRCH, 2016; NETO et al., 2009).

2.3.2.2. Composição química do óleo da polpa de inajá

O efeito das variáveis do processo (pressão, temperatura, método de extração) na composição do óleo de polpa de inajá (OIP1-OIP5; OISH e OISP) foi verificado por espectrometria de massa por cromatografia em fase gasosa (CG-EM). A área relativa (%) dos principais compostos dessas amostras de óleo é apresentada na **Tabela 2.5**.

Tabela 2.5. Composição química do óleo de polpa de inajá obtido a partir de propano comprimido, *n*-hexano e éter de petróleo

Picos	Compostos	Rt (min) ^a	Área relativa (%)						
			OIP1	OIP2	OIP3	OIP4	OIP5 ^b	OISH	OISP
1	Disiloxane	15,13	-	-	-	-	-	21,62	2,39
2	Heptadecane	42,76	-	2,5	-	-	-	-	-
3	Ácido hexadecanoico	46,99	-	5,68	-	-	-	-	-
4	Ácido Palmítico	50,83	-	-	4,73	2,29	-	-	1,51
5	Nonyl tetradecyl ether	55,24	-	3,44	-	-	-	-	-
6	Ácido fumarico	57,57	-	-	-	4,21	2,62 ± 0,72	25,02	9,71
7	L-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	58,00	9,59	12,48	9,94	9,96	9,30 ± 1,20	-	5,93
8	Hexadecyl nonyl ether	60,67	-	5,88	3,51	-	2,36 ± 0,85	-	2,13
9	Ácido vacênico	62,23	-	-	-	16,74	10,15 ± 1,73	43,69	34,25
10	Ácido oleico	62,73	38,37	49,59	39,90	36,85	44,17 ± 0,40	-	26,39
11	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	64,58	18,08	-	10,74	8,12	8,45 ± 0,33	-	-
12	Carotene, 7',8',11',12',15',15'-decahydro-	71,21	23,36	11,44	16,59	12,34	11,62 ± 2,10	9,67	11,30

^a Tempo de retenção.^b Ponto central para extração subcrítica de propano, média ± desvio padrão (n = 3).Propano subcrítico (OIP1 - OIP5), extração de Soxhlet com *n*-hexano (OISH) e éter de petróleo (OISP). FONTE: A autora (2019).

A extração com propano subcrítico mostrou diferentes quantidades de compostos químicos. O principal composto identificado no óleo das extrações com propano foi o ácido oleico, seguido pelo caroteno 7,7', 8,8', 11,11', 12,12', 15,15'-decahidro. O ácido oleico (ácido ω -9 graxo) foi o principal ácido graxo monoinsaturado presente no óleo de polpa de inajá (**Tabela 2.5**), e a amostra OIP2 (293,15 K; 10 MPa) apresentou o maior teor. De acordo com pesquisas anteriores, a ingestão enriquecida de ácido oleico na dieta está associada a uma redução da irritabilidade, controle no emocional alterado. Além disso, identificou-se que o consumo de ácido oleico em pacientes com artrite inflamatória contribuiu para o alívio da dor (CAPPA et al., 2012; GALÁN-ARRIERO et al., 2017).

O caroteno foi identificado em todas as amostras de IPO. Analisando os óleos obtidos com propano subcrítico, a amostra OIP1 extraída na condição operacional mais baixa (293,15 K; 2 MPa) continha o maior teor de caroteno. Esse comportamento é esperado, pois os carotenóides são pigmentos naturais e podem ser degradados na presença de fatores externos (altas temperaturas, valores extremos de pH, presença de oxigênio, luz UV) e fatores internos (atividade enzimática) (PAZNOCHT et al., 2019). O óleo, OISH e OISP apresentaram menores áreas relativas de caroteno em comparação com todas as amostras obtidas com propano subcrítico.

A ingestão de carotenóides na dieta humana está relacionada à prevenção de doenças imunológicas degenerativas crônicas, como degeneração macular relacionada à idade, diabetes tipo 2, obesidade, certos tipos de câncer (mama, colo do útero, ovário, colorretal) e doenças cardiovasculares (RODRIGUEZ-CONCEPCION et al., 2018). Outras substâncias importantes foram detectadas no óleo da polpa de inajá, como ácido fumárico e 2,6-dihexadecanoato de ácido L - (+) - ascórbico.

A amostra de óleo obtida por Soxhlet utilizando *n*-hexano como solvente apresentou a maior área relativa (25,02%) para o ácido fumárico. Na indústria de alimentos, o ácido fumárico

é usado principalmente como acidulante de alimentos e proporciona preservação, aprimoramento de sabor e ajuste de pH em alimentos e bebidas. Também é usada como matéria-prima química em outros setores industriais, como a produção de resinas de papel, resinas de poliéster insaturadas, resinas alquídicas e plastificantes (YANG; ZHANG, 2017).

O consumo de vitamina C (ácido ascórbico) está associado à diminuição de doenças inflamatórias e crônicas. Isso ocorre porque o ácido ascórbico atua como antioxidante, inibindo a oxidação e reduzindo a concentração de radicais livres no organismo (MELO-CAVALCANTE et al., 2019). A amostra que apresentou o maior nível de ácido ascórbico foi obtida utilizando propano subcrítico com alta pressão e baixa temperatura (OIP2).

O composto bis (2-etilhexil) ftalato (DEHP) foi identificado na maioria das amostras de óleo de polpa de inajá obtidas pela extração subcrítica de propano. No entanto, nenhuma ocorrência deste composto foi detectada nas amostras extraídas por Soxhlet usando solventes orgânicos, conforme mostrado na **Tabela 2.5**. Sabe-se que o DEHP não é um composto que ocorre naturalmente em amostras de vegetais (CHEN; DENG, 2019). Possivelmente, os óleos foram contaminados por qualquer fonte de plástico (por exemplo, borracha de vedação e anéis de vedação) do equipamento utilizado neste estudo. Portanto, para futuras aplicações industriais que utilizam o óleo de polpa de inajá, é necessário garantir que o processo de extração não contamine o produto final.

2.3.2.3. Conteúdo de β -caroteno total

Os resultados dos carotenóides determinados como o teor total de β -caroteno para o óleo da polpa de inajá obtido usando o propano subcrítico e pelo método de Soxhlet são mostrados na **Tabela 2.6**. A amostra extraída com *n*-hexano (OISH) apresentou o maior teor de β -caroteno (140,99 mg/ 100 g de óleo), seguido de OIP1 (89,55 mg/ 100 g de óleo), que foi obtido com propano subcrítico nas temperaturas e pressões mais baixas. No entanto, com o aumento da

pressão (2 MPa para 10 MPa) e com a mesma temperatura (293,15 K), verificou-se uma redução de 36% no conteúdo de β -caroteno (OIP2).

Considerando que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras OIP3 e OIP4 com a mudança de pressão (2 MPa e 10 MPa, respectivamente), a menor condição operacional de pressão poderia ser utilizada para obter o conteúdo de carotenóides a partir do óleo da polpa de inajá. Por outro lado, os óleos extraídos pelos métodos convencionais (OISH e OISP) mostraram uma diferença significativa ($p < 0,05$) no conteúdo de β -Caroteno. A amostra de óleo recuperada com *n*-hexano também apresentou maior concentração de carotenóides quando comparada à extraída com éter de petróleo. Cuco et al. (2019b), também verificaram que é obtido um maior teor de β -Caroteno da casca de abóbora usando *n*-hexano como solvente. Foi observado um alto nível de β -Caroteno nas amostras de óleo OISP e OIP3, sem diferença significativa no nível de confiança de 95%. Porém, considerando a extração sem geração de resíduos de solventes, bem como o menor tempo de extração, o óleo extraído com propano subcrítico representa uma opção promissora.

Tabela 2.6. β -caroteno, conteúdo fenólico e atividade antioxidante de óleos de polpa de inajá obtidos a partir de propano comprimido e extração de Soxhlet.

Amostra	Condições de extração	β -Caroteno (mg/100g oil)	TPC (mg GAE/100g oil)	DPPH (μ M TE/100g oil)	ABTS (μ M TE/100g oil)	FRAP (μ M TE/100g oil)
OIP1	293,15 K; 2 MPa	89,55 ^b \pm 0,20	9,17 ^d \pm 0,09	213,60 ^d \pm 3,52	420,50 ^e \pm 2,97	19,23 ^d \pm 1,11
OIP2	293,15 K; 10 MPa	57,14 ^f \pm 1,05	9,48 ^d \pm 0,49	254,23 ^c \pm 5,11	434,39 ^d \pm 4,73	23,57 ^c \pm 5,49
OIP3	333,15 K; 2 MPa	82,51 ^{cd} \pm 1,17	8,72 ^e \pm 0,53	191,26 ^e \pm 4,06	417,09 ^e \pm 0,46	12,71 ^e \pm 2,05
OIP4	333,15 K; 10 MPa	83,72 ^c \pm 1,11	7,60 ^f \pm 0,09	135,40 ^g \pm 4,31	169,09 ^g \pm 2,24	11,26 ^e \pm 1,25
OIP5*	313,15 K; 6 MPa	79,53 ^c \pm 4,07	7,65 ^f \pm 0,15	140,48 ^f \pm 3,10	337,01 ^f \pm 1,23	11,26 ^e \pm 1,25
OISH	341,15 K	140,99 ^a \pm 0,70	24,70 ^a \pm 0,23	634,51 ^a \pm 2,93	605,19 ^a \pm 0,16	74,12 ^a \pm 0,52
OISP	333,15 K	81,52 ^d \pm 0,19	14,96 ^b \pm 0,08	615,53 ^b \pm 1,04	500,10 ^b \pm 1,12	45,67 ^b \pm 0,01

Os resultados são a média \pm desvio padrão (n = 3).

Letras minúsculas diferentes significam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Duncan (p < 0,05).

* ponto central para extração subcrítica de propano.

Propano subcrítico (OIP1 - OIP5); Extração de Soxhlet com n-hexano (OISH) e éter de petróleo (OISP); GAE, equivalente em ácido gálico; TE, equivalente a Trolox. FONTE: A autora (2019).

Em comparação com outros óleos de polpa da Amazônia, o óleo de polpa de inajá exibiu maior teor de β -caroteno total que o bacaba (*Oenocarpus bacaba*, 0,302 mg/ 100 g de óleo), buriti (*Mauritia flexuosa*, 29,52 mg/ 100 g de óleo), tucumã (*Astrocaryum vulgare*, 56,71 mg/ 100 g de óleo) e pupunha (*Bactris gasipaes*, 15,02 mg/ 100 g de óleo) (SANTOS, M. F.G.; ALVES; ROCA, 2015). Os mesmos autores também extraíram e analisaram o óleo de inajá usando o Soxhlet com éter dietílico; no entanto, o método de quantificação dos carotenóides foi diferente, justificando que o valor total do conteúdo de β -Caroteno nesta pesquisa seja 98% maior em comparação ao valor apresentado por Santos et al. (2015).

O efeito das condições de extração subcrítica de propano no conteúdo de β -Caroteno foi avaliado usando uma abordagem matemática, conforme descrito por Teixeira et al. (2018a). A **Fig.2. 3** mostra a superfície de resposta para o β -Caroteno total do óleo da polpa de inajá (**Fig. 2.3a**) e a tabela de Pareto para os efeitos padronizados de temperatura e pressão na resposta (**Fig. 2.3b**).

A **Tabela 2.7** apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA). Os resultados revelaram que a interação entre pressão (2-10 MPa) e temperatura (293,15-333,15 K) teve um impacto significativo ($p < 0,05$) no conteúdo de β -Caroteno do óleo da polpa de inajá (**Fig. 2.3**). Além disso, a temperatura teve um efeito negativo no conteúdo de β -Caroteno total, provando que temperaturas mais altas podem diminuir o conteúdo de carotenóides no IPO.

Tabela 2.7. Análise de variância (ANOVA) para o modelo linear ($R^2 = 0,95$; $R^2_{adj} = 0,89$) do conteúdo total de β -caroteno no óleo de polpa de inajá obtido por propano comprimido

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	<i>F</i>	<i>p</i>
T	243,360	1	243,360	20,845	0,020*
P	95,453	1	95,453	55,588	0,065
T×P	282,576	1	282,576	1,366	0,016*
Falta de ajuste	1,890	1	1,890	0,114	0,767
Erro puro	33,135	2	16,567	-	-
Total	656,414	6	-	-	-

* significativo ao nível de confiança de 95%. FONTE: A autora (2019).

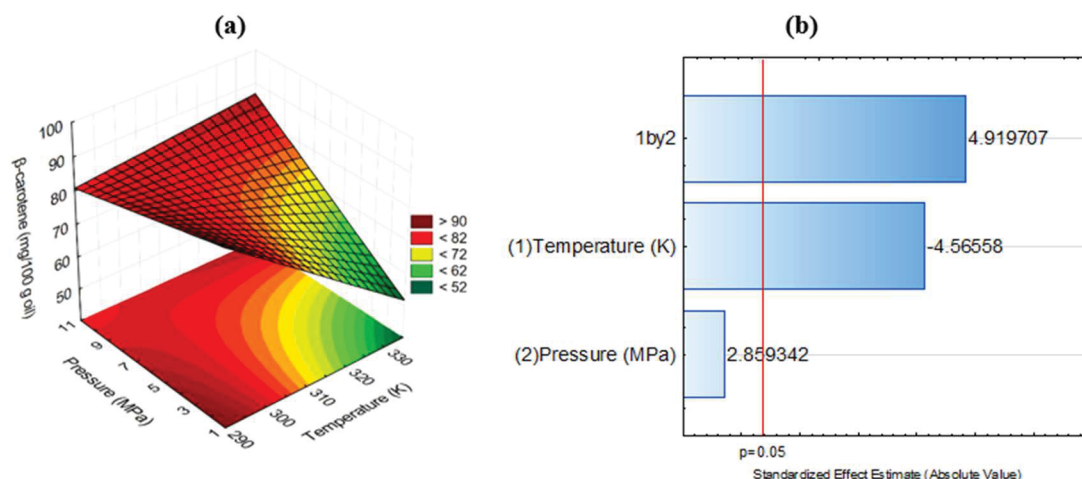


Figura 2.3. Resposta da superfície para o conteúdo total de β -caroteno (a) e gráfico de Pareto (b) mostrando os efeitos estimados padronizados de temperatura e pressão ($p > 0,05$) para a extração de óleo de polpa de inajá usando propano subcrítico.

2.3.2.4. Quantificação dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

Os resultados dos compostos fenólicos totais (CFT) e da atividade antioxidante do óleo da polpa de inajá obtidos usando propano subcrítico e pelo método de Soxhlet são apresentados na **Tabela 2.6**. Todo o óleo de inajá extraído por propano subcrítico e Soxhlet apresentou conteúdo de CFT. Foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) no teor de CFT entre as amostras extraídas por propano subcrítico (OIP1-OIP5). Observou-se que, com o aumento da pressão (2 MPa para 10 MPa) e com a menor temperatura de extração (293,15 K), o maior teor numérico de compostos fenólicos no óleo recuperado foi de 9,48 mg de GAE/ 100 g de

óleo, confirmando que o aumento da densidade do solvente resulta em um maior poder de solvatação (CUCO; CARDOZO-FILHO; SILVA, 2019b), corroborando com um alto teor de fenólicos extraídos. A determinação espectrofotométrica dos compostos fenólicos totais, bem como do β -Caroteno, pode incluir outros componentes e foram expressos como equivalentes específicos; portanto, não foi possível comparação com os resultados obtidos por CG-ES.

As amostras OISH e OISP extraídas por Soxhlet apresentaram maiores teores fenólicos em comparação com o óleo extraído com propano subcrítico. Embora o *n*-hexano e o éter de petróleo tenham polaridades semelhantes, o primeiro apresentou maior capacidade de extração ($p < 0,05$) para extrair compostos fenólicos. Como todas as amostras de óleo apresentaram CFT, independentemente da técnica de extração e considerando as condições de operação (tempo de extração, temperatura, resíduo de solvente, outras), a melhor opção para obter os fenólicos do óleo da polpa de inajá seria usando o método não convencional (propano subcrítico).

A atividade de eliminação do radical DPPH dos extratos fenólicos das amostras de óleo obtidas com propano comprimido (OIP1-OIP5) variou de 135,40 a 254,23 $\mu\text{mol TE/ 100 g}$. Para o ensaio do radical ABTS, os valores variaram de 169,09 a 434,39 $\mu\text{mol TE/ 100 g}$, enquanto a capacidade antioxidante medida pelo ensaio FRAP ficou na faixa de 11,26 a 23,57 $\mu\text{mol TE/ 100 g}$. Em geral, as amostras obtidas com solventes orgânicos apresentaram a maior atividade antioxidante medida por esses três métodos, enquanto a OIP2 (293,15 K; 10 MPa) foi a que apresentou a maior atividade antioxidante em comparação com outras amostras obtidas com o uso de propano subcrítico.

A atividade antioxidante dos óleos extraídos por Soxhlet diferiu significativamente ($p < 0,05$). A amostra de OISH que utilizou *n*-hexano como solvente apresentou maior capacidade antioxidante em relação ao OISP. Além disso, o primeiro apresentou maior atividade antioxidante medida pelos testes ABTS e FRAP do que os óleos recuperados pela técnica de extração não convencional. Em geral, todas as amostras de óleo de inajá apresentaram

capacidade antioxidante significativa nos três testes utilizados (DPPH, ABTS, FRAP) e os resultados podem ser atribuídos à composição de fenólicos totais e outros compostos químicos, como os carotenóides que comprovadamente demonstram propriedades antioxidantes. No entanto, a extração de fluido subcrítico pode ser a melhor escolha, porque a temperatura e a pressão moderadas utilizadas neste trabalho podem reduzir ou eliminar a degradação dos componentes bioativos, resultando em um produto final com uma rica composição química, obtida usando um solvente não tóxico.

2.4. CONCLUSÃO

O óleo da polpa de inajá foi obtido pelas técnicas de extração com propano subcrítico e extração convencional, pelo método Soxhlet. Ao usar propano comprimido, o melhor rendimento (28,66%) obtido foi aplicando pressão e temperatura intermediárias (6 MPa e 313,15 K). Todas as amostras de óleo mostraram uma composição de ácidos graxos ricos em ácidos oleico e palmítico. Além disso, o óleo da polpa de inajá apresentou alta estabilidade térmica, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante. Compostos químicos como caroteno, ácido fumárico, ácido L-(+) - ascórbico e ácido vacênico foram detectados no óleo da polpa de inajá. Embora os melhores resultados sobre a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos tenham sido encontrados no óleo obtido por extração convencional (Soxhlet), os compostos fenólicos presentes no óleo extraído com propano subcrítico também apresentaram capacidade antioxidante. Dessa forma, a condição de processo com menor tempo de extração é considerada o melhor cenário, pois é possível obter óleo da polpa de inajá com uma composição química de alta qualidade, gastando menos energia em comparação ao método convencional. Em geral, este estudo destaca a aplicação do propano subcrítico como um processo eficiente de extração de valiosos compostos do óleo da polpa de inajá, com excelente potencial para uso nas indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. No entanto, para

futuras aplicações industriais que utilizarem este óleo, é necessário garantir que a técnica de extração forneça um óleo livre de contaminantes decorrentes do processo.

CAPÍTULO 3

Perfil de ácidos graxos e qualidade lipídica do óleo de *Maximiliana maripa*
obtido por CO₂ supercrítico e etanol pressurizado

O conteúdo desse capítulo foi publicado integralmente na *Journal of Supercritical Fluids* e sua formatação segue as normas do referido periódico (Anexo II).

CAPÍTULO 3 – PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E QUALIDADE LIPÍDICA DO ÓLEO DE MAXIMILIANA MARIPA OBTIDO POR CO₂ SUPERCRÍTICO E ETANOL PRESSURIZADO

RESUMO: *Maximiliana maripa* é uma palmeira brasileira sub-explorada do bioma da Amazônia. O óleo obtido da polpa dos frutos maduros de *M. maripa* é uma rica fonte de ácidos graxos insaturados, carotenoides e compostos bioativos. Este estudo avaliou o óleo de polpa de palma da maripa (MPPO) obtido por extração com fluido supercrítico (SFE) com CO₂ supercrítico puro (scCO₂), scCO₂ com etanol como co-solvente (scCO₂ + EtOH) e extração líquida pressurizada (PLE) com etanol. Todas as extrações foram avaliadas a 333,15 K e 20 MPa. O PLE mostrou maior recuperação de MPPO (47,76%) comparado ao SFE com scCO₂ (3,55%) ou scCO₂ + EtOH (20,38%). Os ácidos oleico, palmítico, linoleico e linolênico foram os principais ácidos graxos do MPPO. Outros compostos menores, como fenol, caroteno, álcoois e ésteres, também foram detectados. O PLE e o SFE apresentaram muitas vantagens para a extração de MPPO, cuja composição sugere um alto potencial de aplicação nas indústrias alimentícia e farmacêutica.

Palavras-chave: Frutos de palmeiras; ácido oleico; ácidos graxos; óleo de inajá; extração de líquido pressurizado; extração supercrítica.

3.1. INTRODUÇÃO

Existe um interesse crescente da população por produtos naturais alimentares e não alimentares, obtidos sob práticas sustentáveis e produzidos sem a utilização de animais como fonte de matéria-prima. Atualmente, a indústria busca recursos naturais alternativos, ricos em propriedades nutricionais e nutracêuticas, para serem aplicados em diferentes processos e produtos, como exemplo, temos as sementes de frutas. Muitas palmeiras que produzem frutos com alto teor de óleo geralmente são subutilizadas e não têm valor comercial, mas podem

apresentar grande potencial de aplicação na indústria. Um exemplo é o fruto da palmeira *Maximiliana maripa*, que pertence à família Arecaceae e é comumente conhecida como inajá ou maripa. Esta árvore é uma palmeira nativa do Brasil, mas também é encontrada na Venezuela, Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Suriname e Peru (ARAÚJO; LEITÃO; MENDONÇA, 2000; BARBI et al., 2019).

O principal potencial industrial da palmeira da maripa é o seu óleo extraído da polpa durante o estágio de maturação avançado. O óleo de polpa de palma da maripa (MPPO) apresenta um alto teor de ácidos graxos insaturados, especialmente ácido oleico, bem como carotenoides, fenólicos e outros compostos bioativos (BARBI et al., 2019; FERNÁNDEZ et al., 2016). Segundo Gálan-Arriero et al. (2017), uma dieta rica em ácido oleico pode auxiliar de forma benéfica no tratamento da artrite inflamatória e também na redução da irritabilidade dos pacientes. Apesar de apresentar alto potencial industrial, atualmente o fruto da maripa é subutilizado, e há poucos estudos publicados dedicados à recuperação e caracterização de seu valioso óleo. A literatura relata a obtenção do óleo da polpa da maripa usando técnicas convencionais de extração como Soxhlet (BARBI et al., 2019; FERNÁNDEZ et al., 2016) e Bligh & Dyer (RODRIGUES; DARNET; SILVA, 2010). Um estudo recente verificou o potencial de uma extração relativamente barata, à base de propano comprimido, para obter MPPO com compostos biologicamente ativos (BARBI et al., 2019).

Atualmente, muita atenção é dedicada aos processos de extração que usam pequenas quantidades de solventes e proporcionam altos rendimentos de extração, além de apresentar baixo impacto ambiental, como no caso de extrações de fluido supercrítico (SFE) e líquido pressurizado (PLE) (DE SOUZA et al., 2018; RUDKE et al., 2019; TEMELLI, 2009; TREVISANI JUCHEN et al., 2019). O uso dessas técnicas não convencionais, reconhecidas como processos ecológicos, é altamente incentivado devido a muitas vantagens que contribuem para práticas eco-sustentáveis no setor. Além disso, as condições utilizadas no SFE e no PLE

garantem a preservação de substâncias bioativas (SAHENA et al., 2009b; TEMELLI, 2009). No entanto, o CO₂ é um dos fluidos mais comuns usados no óleo SFE, possui comportamento não polar; conseqüentemente, apresenta eficácia limitada na extração de compostos polares (TEPELLI, 2009). Uma solução para aumentar a eficácia do dióxido de carbono sob extração em condições supercríticas (scCO₂) é a adição de solventes polares (solvente auxiliar) (TREVISANI JUCHEN et al., 2019). A presença de outro solvente no vaso de extração pode reduzir o tempo de extração, considerado importante para aplicações industriais (SAHENA et al., 2009).

A extração líquida pressurizada (PLE) também é considerada um processo verde devido à pequena quantidade de solvente utilizado (RUDKE et al., 2019). A técnica PLE mostrou potencial para a recuperação de óleo de uma variedade de matérias-primas como semente de uva (FREITAS et al., 2013), polpa de macaúba (TRENTINI; SILVA; et al., 2017) e sementes de açafrão (CONTE et al., 2016). No entanto, nem o PLE nem o scCO₂ foram aplicados para obter o óleo da polpa do fruto maduro da *Maximiliana maripa*.

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a eficiência do SFE com CO₂ puro, CO₂ + etanol como co-solvente, além do PLE com etanol na extração de óleo de polpa da maripa. Os resultados obtidos no SFE e PLE foram comparados com os do método convencional de Soxhlet com diferentes solventes orgânicos. Além disso, o óleo extraído a partir dos diferentes processos foi avaliado quanto ao perfil de ácidos graxos, qualidade lipídica e composição química.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Preparação das amostras dos frutos da maripa

Os frutos inteiros da *M. maripa* utilizados neste estudo foram coletados em uma área rural da cidade de Breu Branco (Estado do Pará, Brasil), na fase madura, conforme descrito

anteriormente (BARBI et al., 2019). Após lavagem dos frutos em água corrente e higienização em solução de hipoclorito (200 ppm), a polpa foi extraída das sementes e seca em liofilizador (Liotop L101, Liobras, Brasil) sob a temperatura de 198,85 K e a pressão de vácuo $<500 \mu\text{Hg}$. A farinha seca da polpa da maripa (MPPF) foi moída em um processador de alimentos doméstico (Problend 6, Philips Walita, Brasil). O diâmetro médio das partículas foi medido nas peneiras da série Tyler, conforme descrito por Gomide (1983), considerando as frações de massa do material retidas nas seguintes peneiras: malha 8 (45,07%), malha 12 (14,08%), malha 20 (9,76%), 24 malhas (16,84%), 32 malhas (9,84%), 48 malhas (3,23%) e inferior (20,63 %). Depois disso, todas as frações foram misturadas e a amostra de farinha foi acondicionada em sacos de polietileno de baixa densidade, selada a vácuo e armazenada a 268,15 K até as extrações. O teor de umidade do MPPF foi determinado por secagem em estufa a 378.15 K até massa constante, seguindo o método AOAC 930.15 (AOAC, 2000).

3.2.2. Métodos de extração

3.2.2.1. Extração com fluido supercrítico (SFE)

As extrações com fluido supercrítico (scCO_2 puro e $\text{scCO}_2 + \text{EtOH}$) foram realizadas em uma unidade extratora supercrítica em escala de bancada. O equipamento e o procedimento usados neste estudo foram relatados em detalhes em outros lugares (BARBI et al., 2019; DE SOUZA et al., 2018). A condição de extração foi estabelecida em 333,15 K e 20 MPa, de acordo com estudos anteriores sobre extração de óleos ricos em ácido oleico (FETZER et al., 2018; TEIXEIRA; GHAZANI; et al., 2018a). O CO_2 (99,9%) aqui utilizado foi obtido da White Martins (Araucária, PR, Brasil), enquanto o etanol (99,8% de pureza na fase líquida) foi adquirido da Sigma Aldrich (São Paulo, SP, Brasil). A combinação de scCO_2 com etanol foi usada para avaliar a influência do etanol no rendimento da extração. Para a extração usando scCO_2 puro, foram utilizados cerca de 20 g de MPPF seco para encher o vaso extrator. Na

extração usando um solvente auxiliar, a mesma quantidade de amostra seca foi embebida em etanol a uma razão de massa de 1: 1 (m/m) e imediatamente carregada no extrator. Em seguida, o extrator foi fechado e preenchido com CO₂ na pressão e temperatura desejadas. O tempo de extração estática durou 60 min. No final do período estático, a extração dinâmica começou usando uma vazão aproximada de CO₂ comprimido de 2,0 mL min⁻¹ e se manteve ao longo do processo. A taxa foi medida e controlada pela bomba seringa a 283,15 K e a pressão do recipiente de extração a 20 MPa. O óleo foi coletado em um frasco de âmbar em intervalos de 5 min, e cada extração foi realizada até a extração com taxa zero, ou seja, quando nenhuma variação de massa foi verificada. A amostra extraída com o cosolvente foi submetida a um forno de circulação de ar a 333,15 K para remover o etanol residual. O rendimento foi calculado como a razão entre a massa de óleo extraída e a massa inicial de MPPF (n = 2).

3.2.2.2. Extração com líquido pressurizado (PLE)

Uma unidade em escala de bancada para extração de líquidos pressurizados foi utilizada para a extração de MPPO. O sistema experimental consistiu em um reservatório para o solvente, uma bomba de deslocamento positivo de alta pressão (Série 2SM Optos, Eldex, São Paulo, SP, Brasil), uma válvula de agulha (Série MVE, Parker, São Paulo, SP, Brasil) para parar o fluxo de solvente, um recipiente de pré-aquecimento, uma célula de extração de aço inoxidável (volume interno de $1,8 \times 10^{-5} \text{ m}^3$, $L = 0,16 \text{ m}$, diâmetro = $1,2 \times 10^{-2} \text{ m}$) com uma camisa de aquecimento para controle de temperatura, seguida por um recipiente de resfriamento (*chiller*) acoplado a um banho de temperatura controlada (SL1582, Solab, Piracicaba, SP, Brasil). Resumidamente, um leito fixo foi formado com 6,6 g de MPPF dentro do extrator, e o PLE foi realizado com etanol (99,8% de pureza na fase líquida; Sigma Aldrich, SP, Brasil) bombeado a uma vazão de 2,0 mL min⁻¹. A extração também foi realizada a 333,15 K e 20 MPa para comparação com o SFE. No entanto, o tempo estático e o tempo total de extração foram

diferentes, conforme definido por testes preliminares. Depois de atingir a temperatura necessária no sistema, a válvula de agulha na saída da célula de extração foi aberta e a extração iniciada. O tempo final de extração foi estabelecido em 240 min, com base em Souza et al. (DE SOUZA et al., 2019). Após o processo de extração, as amostras coletadas foram secas em um forno de circulação de ar a 333,15 K até massa constante para remover o solvente, e o óleo foi armazenado em um recipiente de vidro âmbar a 268,15 K. O rendimento avaliado em duplicado foi calculado como a razão da massa de óleo extraída para a massa inicial de MPPF ($n = 2$).

3.2.2.3 Extração por Soxhlet

As extrações usando acetato de etila, etanol e metanol (99,8% de pureza, todas da Sigma Aldrich, Brasil), foram realizadas em um aparelho Soxhlet seguindo o método AOAC 920.39 (AOAC, 2000). A temperatura foi ajustada de acordo com o ponto de ebulição de cada solvente utilizado e o tempo total de extração foi de 360 min. O experimento foi realizado em duplicata e, após a extração, o solvente foi evaporado rotativamente (Modelo 801, Fisatom Ltda., Brasil) à 333,15 K e 80 rpm. Em seguida, as amostras de óleo foram colocadas em um forno de circulação de ar (Nova Ética, Modelo 400/ 6ND, São Paulo, Brasil) à 333,15 K até massa constante. O rendimento foi calculado como a razão entre a massa de óleo extraída e a massa inicial de MPPF.

3.2.3. Análises do óleo

3.2.3.1. Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos foi determinado por cromatografia a gás (GC-2010 Plus, Shimadzu) usando uma coluna capilar CP-Wax 58 FFAP CB (50 m \times 0,25 mm \times 0,20 μ m) da Agilent (Santa Clara, CA, EUA) e um Detector de ionização de chama (FID). As temperaturas da coluna e do detector foram 523,15 K e 553,15 K, respectivamente. A temperatura do forno

foi ajustada para aumentar de 373,15 K para 448,15 K a uma taxa de 25 K min⁻¹. Então, a temperatura aumentou para 503,15 K a uma taxa de 4 K min⁻¹ e foi mantida por 15 min. O gás portador (35,6 cm s⁻¹) era Hélio e a injeção foi realizada com 1 µL. As amostras foram preparadas de acordo com o Método Oficial AOCS Ce 2–66 para converter os óleos em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) (AOCS,1997). A composição de ácidos graxos das amostras de MPPO foi determinada pela comparação do tempo de retenção dos picos dos respectivos padrões de ácidos graxos e apresentada como uma porcentagem da área relativa.

3.2.3.2. Qualidade lipídica do óleo de polpa de palma da maripa

Quatro índices de qualidade nutricional das frações lipídicas foram calculados utilizando o perfil de ácidos graxos e utilizados para avaliar o óleo de M. maripa. A proporção entre ácidos graxos poliinsaturados e saturados (PUFA/SFA), bem como entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (H/H), foi prevista. Outros índices foram calculados como o índice de aterogenicidade (AI) e o índice de trombogenicidade (TI). O H/H (Eq. 1), AI (Eq. 2) e TI (Eq. 3) foram calculados de acordo com Santos-Silva et al. (2002) e Cunha et al. (2018), considerando o conteúdo de mirístico (C14: 0), palmítico (C16: 0), esteárico (C18: 0), oleico (C18: 1ω9), linoleico (C18: 2ω3) e linolênico (C18: 3ω6) ácidos e a soma de ácidos graxos monoinsaturados presentes no MPPO.

$$H/H = \frac{C18:1\omega9 + C18:2\omega3 + C18:3\omega6}{C14:0 + C16:0} \quad (1)$$

$$AI = \frac{C12:0 + 4(C14:0) + C16:0}{\sum MUFA \quad \sum \omega6 + \sum \omega3} \quad (2)$$

$$TI = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{0.5(\sum MUFA) + 0.5(\sum \omega6) + 3(\sum \omega3) + (\sum \omega3/\omega6)} \quad (3)$$

3.2.3.3. Composição química por CG-EM

Alíquotas de amostras de MPPO foram dissolvidas em n-hexano de grau espectroscópico (99,9% de pureza, Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) a uma concentração de 1 mg mL⁻¹ e foram imediatamente analisadas por um Shimadzu TQ8040 GC-MS (Barueri, SP, Brasil). Utilizou-se uma coluna capilar HP-5MS não polar (espessura de filme de 30 m × 0,25 mm id × 0,25 µm, fenil a 5% / dimetilpolisiloxano a 95%) da Agilent (Santa Clara, CA, EUA). O hélio foi o gás transportador e o volume de injeção foi de 1,0 µL. O espectrômetro de massa foi ajustado para varrer de 40 a 1000 m/z. A temperatura da coluna foi inicialmente mantida a 323,15 K por 1 min. Então, a temperatura aumentou a uma taxa de 5 K min⁻¹ a 473,15 K e manteve-se por 1 min. A biblioteca NIST-14 e os dados da literatura foram utilizados para identificar os compostos mostrados nas amostras de MPPO.

3.2.4 Análises dos dados

Os dados foram analisados por ANOVA, e os resultados apresentados como média ± desvio padrão. O teste de Tukey foi utilizado para avaliar a diferença entre as amostras com um nível de confiança de 95% (p < 0,05), utilizando o software Statistica 10.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Os gráficos foram criados usando o software Origin 8.6 (OriginLab, Northampton, MA, EUA).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Extração com solventes orgânicos

As principais características da farinha de *M. maripa* utilizadas neste estudo foram mostradas em um trabalho anterior (BARBI et al., 2019). O MPPF teve uma umidade de 11,7% e diâmetro médio das partículas de $1,6 \times 10^{-3}$ m. A **Tabela 3.1** mostra o rendimento de extração

de MPPO obtido no sistema Soxhlet usando diferentes solventes como acetato de etila (SI1), etanol (SI2) e metanol (SI3). A extração com metanol proporcionou o maior rendimento de óleo (56,2%), seguido por etanol (52,6%). No entanto, nenhuma diferença significativa ($p > 0,05$) foi verificada entre eles. O acetato de etila apresentou o menor rendimento de óleo (31,1%) e menor eficiência de extração (55,3%) em comparação com etanol e metanol. Esses resultados sugerem que o óleo da polpa de *M. maripa* maduro é composto principalmente de lipídios polares.

Tabela 3.1. Rendimento da extração e condições experimentais do óleo de polpa de palma da maripa obtido por SFE, PLE e Soxhlet.

Amostra	Solvente	Polaridade	Densidade (kg/m ³) [#]	S/F (kg solvente/kg alimentação) ^{##}	T (K)	P (MPa)	Tempo de extração (min)	Rendimentos (wt%)*	Eficiência (%)**
SI1	Acetato de etila	4,3	902	40,0:1	350,25	0,1	360	31,1 ± 1,1 ^c	55,3
SI2	Etanol	5,2	789	40,0:1	351,52	0,1	360	52,6 ± 2,4 ^{ab}	93,6
SI3	Metanol	6,6	792	40,0:1	337,85	0,1	360	56,2 ± 2,0 ^a	100
SI4	scCO ₂ puro	-	980,18	16,6:1	333,15	20	170	3,6 ± 0,6 ^c	6,4
SI5	scCO ₂ +EtOH	-	980,18	5,8:1	333,15	20	60	20,4 ± 0,5 ^d	36,3
SI6	PLE-EtOH	-	774,13	58,8:1	333,15	20	240	47,8 ± 0,8 ^b	85,0

Média ± desvio padrão (n = 2). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (teste de Tukey, p < 0,05).

[#] Dados obtidos no NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry/fluid/>) considerando a temperatura de 283,15 K e os valores de pressão da extração (condições da bomba).

^{##} Quantidade de solvente usada na extração expressa como proporção de solvente para alimentação (S / F).

* Massa do extrato pela massa de material seco alimentado × 100 em base seca.

** Massa do extrato seco obtido com os solventes no final do tempo de extração em massa do extrato seco obtido com metanol na extração clássica × 100.

Verificou-se que o uso de solventes polares também proporcionou maiores rendimentos de extração do que o *n*-hexano (28,7%) e éter de petróleo (30,3%) (BARBI et al., 2019). Além de sua polaridade mais alta em relação ao etanol, a eficiência superior do metanol na recuperação de lipídios do MPPF pode ser devida a outras propriedades, como a constante dielétrica, que é 33 para o metanol, enquanto o etanol mostra 24 (REICHARDT, 2003). Isso sugere que o metanol é capaz de formar ligações de hidrogênio mais fortes, e os compostos polares podem mostrar melhores propriedades de solvatação em comparação ao etanol e acetato de etila (RODRIGUEZ et al., 2018).

Reduzir o uso de solventes tóxicos, inflamáveis e prejudiciais ao meio ambiente é uma prioridade para as indústrias alimentícias e não alimentícias. As tecnologias de extração que aplicam solventes considerados seguros e não tóxicos, como água, dióxido de carbono e etanol, estão sendo incentivadas para a extração de diferentes materiais (CRUZ et al., 2019). Por esse motivo, o etanol foi considerado uma alternativa a ser associada ao dióxido de carbono supercrítico, bem como à extração líquida pressurizada para avaliar a recuperação do rendimento do óleo de maripa.

3.3.2 Extração com solventes pressurizados

Os resultados do rendimento de extração obtido com solventes pressurizados são mostrados também na **Tabela 3.1**. Os valores de eficiência de extração foram calculados usando a extração Soxhlet com metanol como referência.

O menor rendimento de extração (3,6%) foi obtido aplicando scCO_2 puro como solvente. Verificou-se que após a adição de etanol como co-solvente na mesma condição de extração, o rendimento da extração melhorou significativamente em aproximadamente 5,7 vezes em comparação ao scCO_2 puro. A inclusão de etanol aumentou a polaridade do sistema de extração e favoreceu a recuperação de moléculas polares, além de reduzir o tempo de

extração. O uso de etanol como cosolvente tem sido comprovado como eficiente para melhorar a extração supercrítica de dióxido de carbono de lipídios (SAHENA et al., 2009; TEMELLI, 2009). Comportamento semelhante foi relatado na obtenção de extratos de folhas de *A. lappa* (DE SOUZA et al., 2018) e óleo de semente de baru (FETZER et al., 2018).

Como mostrado na **Fig. 3.1a**, o scCO_2 puro não foi eficiente para atingir um platô de extração nas condições de extração estudadas. Na **Figura 3.1b**, o óleo foi extraído principalmente nos primeiros 15 minutos com uma taxa de extração constante. Esse comportamento pode ser devido ao fato de que a transferência de massa é facilitada durante a extração de óleo disponível presente na superfície das partículas, levando a um aumento quase linear ao longo da extração (TEIXEIRA; GHAZANI; et al., 2018). Essa etapa inicial é seguida pelo período de transição com taxa de extração decrescente de até 30 min, onde os efeitos convectivos na fase fluida e a etapa controlada difusiva na fase sólida regulam a taxa de extração e, por fim, a extração atinge a etapa controlada por difusão (SOVOVÁ, 1994).

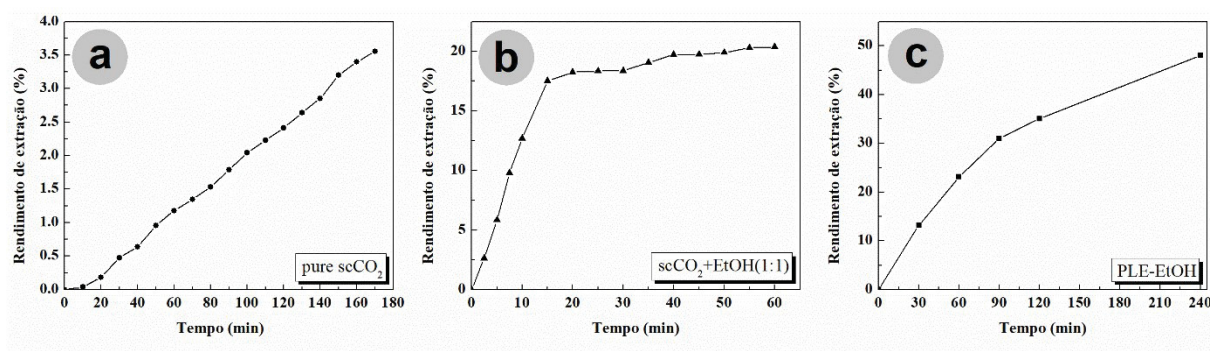


Figura 3.1. Curvas cinéticas experimentais para extração de óleo de polpa de palma de maripa madura usando scCO_2 puro (a), scCO_2 + etanol como co-solvente (b) e extração líquida pressurizada com etanol (c).

No presente estudo, a extração de líquidos pressurizados foi estudada aplicando etanol como solvente alternativo menos agressivo ao meio ambiente. O etanol também é mais seguro para aplicação na indústria de alimentos quando comparado com outros solventes orgânicos convencionais. Além de extrair a fração lipídica, o etanol é eficiente na recuperação de outros

compostos como polifenóis e compostos bioativos (FETZER et al., 2018; RUDKE et al., 2019). Comparado à extração de fluido supercrítico, o PLE apresentou maior eficiência na recuperação de MPPO (47,8%), atingindo 85% da produção de óleo obtida com metanol (**Tabela 3.1**).

A técnica não convencional de PLE obteve um rendimento significativo de extração de óleo do MPPF; no entanto, nas condições estudadas, a extração de PLE não atingiu a etapa de extração controlada por difusão (relacionada à taxa de extração em queda), como mostrado na **Figura 3.1c**. Assim, são necessários mais estudos para entender melhor o comportamento cinético da extração de óleo do MPPF por esse método promissor.

3.3.3. Perfil de ácidos graxos

A **Tabela 3.2** apresenta o perfil de ácidos graxos medido por GC-FID para as amostras de MPPO obtidas pelo método convencional de Soxhlet com acetato de etila (SI1), etanol (SI2) e metanol (SI3) ou usando scCO₂ (SI4), scCO₂ + puro EtOH (SI5) e PLE-EtOH (SI6). Independentemente do método de extração, o óleo de *M. maripa* era composto majoritariamente de ácidos graxos insaturados (aproximadamente 73%) e cerca de 26% de ácidos graxos saturados. A presença de ácidos graxos monoinsaturados (60%) foi predominante em comparação aos ácidos graxos poliinsaturados (13%).

Tabela 3.2. Perfil de ácidos graxos do óleo de polpa de palma da maripa obtido por SFE, PLE e Soxhlet

Ácidos graxos	Conteúdo (%)					
	SI1	SI2	SI3	SI4	SI5	SI6
Laurico (C12:0)	0,8	0,7	0,8	1,3	0,8	0,7
Mirístico (C14:0)	1,7	1,7	1,8	2,3	1,6	1,6
Palmítico (C16:0)	20,6	20,4	20,5	21,8	20,3	20,0
Esteárico (C18:0)	3,2	3,2	3,4	2,6	3,1	3,1
Oleico (C18:1)	59,7	60,0	60,1	58,2	60,3	60,5
Linoleico (C18:2)	6,7	6,8	6,7	6,5	6,7	6,7
Linolênico (C18:3)	6,6	6,5	6,6	6,5	6,4	6,6
Σ SFA ¹	26,2	26,0	26,5	28,0	25,8	25,4
Σ MUFA ²	59,7	60,0	58,1	58,2	60,3	60,5
Σ PUFA ³	13,3	13,2	13,2	13,0	13,1	13,3
Σ UFA ⁴	73,0	73,3	71,3	71,2	73,4	73,8

Acetato de etila (SI1), etanol (SI2) e metanol (SI3) ou usando scCO₂ (SI4), scCO₂ + puro EtOH (SI5) e PLE-EtOH (SI6).

¹ Ácidos graxos saturados.

² Ácidos graxos monoinsaturados.

³ ácidos graxos poliinsaturados.

⁴ Ácidos graxos insaturados.

Os resultados mostraram que os principais ácidos graxos observados em todas as amostras de MPPO foram os ácidos oleico (58,2 a 60,5%) e palmítico (20,0% a 21,8%). Resultados semelhantes para o perfil de ácidos graxos de outras sementes de frutos ricos em óleo extraídos por fluidos pressurizados foram encontrados por Fetzner et al.(2018), Teixeira et al. (2018a) e Cunha et al. (2018).

Considerando um processo energeticamente mais viável que fornece um alto rendimento de extração para a obtenção de MPPO, o método PLE não convencional pode ser considerado promissor. O PLE atingiu um rendimento de extração de cerca de 25% em 60 min, enquanto o SFE com scCO₂ + EtOH atingiu 20% no mesmo tempo de extração (**Figura 3.1b**). Apesar de apresentar um alto rendimento de extração de 53% usando etanol como solvente, o método Soxhlet apresenta um tempo de extração muito longo (360 min) comparado às técnicas não convencionais, o que significa maior custo energético do processo. Além disso, o PLE preservou as concentrações de ácidos graxos, o que reforça sua futura aplicação industrial.

3.3.4. Qualidade lipídica do óleo de maripa

A razão entre os ácidos graxos poliinsaturados/saturados (PUFA/SFA) e hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos (H/H), bem como os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) são mostrados na **Tabela 3.3**.

No presente trabalho, foi obtida uma boa razão PUFA/SFA para o MPPO em todas as técnicas de extração, cujo valor foi de 0.5. De acordo com a literatura, a relação PUFA/SFA é considerada um fator altamente relevante para óleos vegetais e expressa a funcionalidade lipídica do material, bem como o potencial do óleo para consumo humano ou para fins industriais. Considera-se inadequado para a dieta humana, uma relação PUFA/SFA abaixo de 0,45, pois está associada ao aumento do colesterol LDL no sangue (CUNHA et al., 2018; WILLIAMS, 2000).

O óleo de polpa de maripa apresentou valores para o índice H/H variando de 3,0 a 3,4. Esses valores são menores que os da noz de sapucaia (variaram entre 4,3 - 5,4) (SANTOS, et al., 2019) e os óleos de sementes de bacaba-de-leque (4,1 - 4,4) (CUNHA et al., 2018), mas são mais altos que a manteiga obtida do leite (0,3 - 0,7) e gordura de leite de vacas suplementadas com a soja torrada (0,5 – 1,0) (BARROS et al., 2013; MOURTHÉ et al., 2015). A atividade de ácidos graxos está diretamente relacionada à concentração de lipoproteína de alta densidade (HDL), a qual, por sua vez, está associada ao metabolismo lipídico. Isso sugere que quanto maior a razão H/H, maior a capacidade cardioprotetora do óleo. Resumidamente, alimentos com alta relação H/H pode apresentar qualidade e benefícios funcionais superiores quando comparados àqueles com baixos valores de H/H (SANTOS et al., 2019).

Tabela 3.3. Índices de qualidade lipídica do óleo de polpa de palma da maripa obtidos por SFE, PLE e Soxhlet.

Amostra	Qualidade lipídica			
	PUFA/SFA ¹	H/H ²	IA ³	IT ⁴
SI1	0,5	3,4	0,4	0,5
SI2	0,5	3,3	0,4	0,5
SI3	0,5	3,3	0,4	0,5
SI4	0,5	3,0	0,4	0,5
SI5	0,5	3,3	0,4	0,5
SI6	0,5	3,4	0,4	0,4

Acetato de etila (SI1), etanol (SI2) e metanol (SI3) ou usando scCO₂ (SI4), scCO₂ + puro EtOH (SI5) e PLE-EtOH (SI6).

¹Razão entre ácidos graxos poliinsaturados/ saturados.

² Razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos.

³ Índice de aterogenicidade.

⁴ Índice de trombogenicidade.

As amostras de MPPO avaliadas neste estudo apresentaram valores de IA de 0,4 e IT variando de 0,4 à 0,5. Os baixos valores de IA e TI implicam maior quantidade de ácidos graxos antiaterogênicos presentes em certos óleos e estão relacionados à prevenção do aparecimento de doenças cardiovasculares (CUNHA et al., 2018; PINTO et al., 2018). Óleos com propriedades de boa qualidade devem apresentar valores de IA e IT inferiores a 1 (CUNHA et al., 2018). Assim, independentemente do método de extração, o óleo de polpa de maripa apresentou uma rica qualidade lipídica.

3.3.4. Composição química do óleo de maripa

Diferentemente do GC-FID, que considera apenas o teor de ésteres metílicos de ácidos graxos, muitos outros compostos como terpenóides, álcoois graxos, fenóis e ésteres foram identificados pelo CG-EM nas amostras de MPPO, além dos ácidos graxos. A área relativa (%) de cada composto no MPPO é mostrada na **Tabela 3.4**.

Os compostos majoritários identificados por GC-MS nas amostras de óleo obtidas por Soxhlet com acetato de etila, etanol e metanol, bem como nos óleos extraídos com scCO₂ puro, scCO₂ + EtOH e PLE foram oleicos (45,68 - 55,11%) e ácidos palmíticos (18,84 - 22,48%). Esses valores foram semelhantes aos obtidos pelo GC-FID (**Tabela 3.2**). Também foi

observado conteúdo expressivo de caroteno (5,61 - 11,66%), principalmente nas amostras de óleo extraídas por técnicas não convencionais. Vale ressaltar que o óleo extraído pelo PLE apresentou eficiência semelhante na recuperação de caroteno da amostra obtida por scCO₂ puro. No entanto, o PLE pode representar uma técnica melhor, pois proporcionou um maior rendimento de extração que o CO₂ supercrítico. Além disso, alguns compostos foram identificados apenas no óleo extraído pelo líquido pressurizado, como o fenol 2,6-bis (1,1-dimetiletil) -4-metil e octacosanol. Esses compostos apresentam propriedades antioxidantes benéficas, como proteção às células, alívio do estresse, restaura o sono afetado pelo estresse e reduzem as inflamações corporais (SHARMA et al., 2019).

Tabela 3.4. Composição química de amostras de óleo de palma de maripa obtidas por diferentes métodos de extração.

Compostos	Área Relativa (%)					
	SI1	SI2	SI3	SI4	SI5	SI6
Ácido mirístico	0,05 ± 0,01 ^c	0,12 ± 0,01 ^b	4,63 ± 0,03 ^a	0,09 ± 0,01 ^b	0,11 ± 0,01 ^b	0,08 ± 0,01 ^b
2-Methoxy-4-vinylphenol	0,17 ± 0,01 ^c	0,60 ± 0,07 ^a	n,d	0,27 ± 0,02 ^b	0,60 ± 0,07 ^a	0,27 ± 0,01 ^b
Phenol 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl	0,08 ± 0,01 ^b	0,06 ± 0,01 ^b	n,d	n,d	n,d	1,06 ± 0,01 ^a
2,4-Dihydroxybenzoic acid	0,29 ± 0,01 ^c	0,69 ± 0,07 ^b	2,32 ± 0,02 ^a	0,31 ± 0,01 ^c	0,68 ± 0,01 ^b	0,25 ± 0,02 ^c
Ácido esteárico	0,31 ± 0,01 ^b	1,03 ± 0,16 ^a	n,d	0,23 ± 0,01 ^c	0,32 ± 0,01 ^b	0,23 ± 0,01 ^c
Pentadecanal	0,09 ± 0,01 ^b	n,d	n,d	n,d	0,12 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,01 ^b
9,9-Dimethoxybicyclo[3,3,1]nona-2,4-dione	n,d	n,d	n,d	n,d	0,13 ± 0,01 ^a	0,06 ± 0,01 ^b
O ácido tricostílico	0,47 ± 0,03 ^b	0,83 ± 0,09 ^a	n,d	0,77 ± 0,02 ^a	0,84 ± 0,01 ^a	0,56 ± 0,01 ^b
Ácido beénico	0,24 ± 0,01 ^c	0,42 ± 0,01 ^c	2,51 ± 0,01 ^a	0,32 ± 0,03 ^d	0,61 ± 0,01 ^b	0,36 ± 0,01 ^d
Ácido erúcico	n,d	1,14 ± 0,06 ^b	6,32 ± 0,01 ^a	n,d	n,d	n,d
Z-9-Pentadecenol	n,d	n,d	n,d	n,d	0,91 ± 0,01 ^a	0,32 ± 0,01 ^b
13-Docosenamide	0,41 ± 0,01 ^c	n,d	n,d	n,d	1,26 ± 0,02 ^a	0,45 ± 0,01 ^b
Ácido gondoico	n,d	0,12 ± 0,04 ^b	3,63 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,01 ^b	n,d	n,d
1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	n,d	n,d	16,69 ± 0,07 ^a	0,11 ± 0,01 ^b	n,d	n,d
Ácido palmítico	17,87 ± 0,01 ^b	18,07 ± 0,25 ^b	2,36 ± 0,01 ^c	19,50 ± 0,71 ^b	22,48 ± 0,14 ^a	18,84 ^b ± 0,07 ^b
9-Octadecenamide	1,66 ± 0,01 ^c	3,71 ± 0,03 ^b	8,41 ± 0,01 ^a	n,d	3,39 ± 0,21 ^b	1,65 ^c ± 0,07 ^c
Ácido petroselinico	n,d	n,d	n,d	2,02 ± 0,01 ^a	n,d	0,06 ^b ± 0,01 ^b
Ácido linoléico	n,d	4,88 ± 0,45 ^b	15,60 ± 0,01 ^a	4,11 ± 0,01 ^c	4,93 ± 0,07 ^b	4,10 ^c ± 0,01 ^c
Ácido oleico	47,52 ± 0,02 ^b	45,47 ± 0,24 ^b	30,33 ± 0,06 ^c	45,68 ± 0,35 ^b	55,11 ± 0,01 ^a	49,05 ^a ± 0,72 ^a
Ácido linolênico	4,45 ± 0,01 ^b	4,88 ± 0,16 ^a	3,14 ± 0,04 ^d	0,36 ± 0,02 ^f	2,64 ± 0,02 ^c	3,84 ± 0,01 ^c
-Carotene, 7,7',8,8',11,11',12,12',15,15'-decahydro-	2,91 ± 0,02 ^c	3,07 ± 0,01 ^c	2,81 ± 0,02 ^c	11,66 ± 0,14 ^a	5,61 ± 0,01 ^b	11,49 ± 0,70 ^a

Ácido eicosanoico	n,d	$1,35 \pm 0,20^a$	n,d	$0,97 \pm 0,03^b$	n,d	n,d
Octacosanol	n,d	$0,24 \pm 0,04^b$	n,d	n,d	n,d	$2,24 \pm 0,04^a$
2,3-Nonadecanediol	$2,58 \pm 0,01^a$	$2,10 \pm 0,02^b$	n,d	n,d	n,d	n,d

Acetato de etila (SI1), etanol (SI2) e metanol (SI3) ou usando scCO_2 (SI4), scCO_2 + puro EtOH (SI5) e PLE-EtOH (SI6).
n.d: não detectado. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Em relação às amostras de óleo extraídas por Soxhlet, observou-se que o óleo obtido com metanol (SI3) apresentou menor número de compostos identificados em comparação às amostras de MPPO obtidas com acetato de etila e etanol. Além disso, a amostra SI3 apresentou a composição mais diversificada, bem como o menor teor de ácido oleico (30,33%), enquanto o ácido linoleico apresentou maior área relativa (15,60%) em comparação com as demais amostras (**Tabela 3.4**).

Em geral, pode-se confirmar que as técnicas de extração e os solventes aqui aplicados influenciaram substancialmente a composição das amostras de óleo de maripa. Considerando um processo mais limpo e ecológico, o etanol pode ser o solvente mais viável para a extração de MPPO, pois é seguro e pode ser aplicado em processos alimentares. Além disso, o etanol utilizado como solvente na técnica PLE apresentou alta eficiência na recuperação do óleo de *M. maripa* com rica composição química e alta atividade biológica, apresentando também um alto rendimento de extração.

3.4. CONCLUSÃO

O óleo da polpa de maripa foi obtido pela primeira vez usando dióxido de carbono supercrítico e extração líquida pressurizada com etanol. O uso de scCO₂ puro foi pouco eficaz na recuperação do óleo da polpa de palmeira de maripa a 333,15 K e 20 MPa. No entanto, a adição de etanol como co-solvente no scCO₂ melhorou o rendimento da extração em mais de cinco vezes, pois o etanol aumentou a polaridade da mistura de solventes, facilitando a recuperação de moléculas polares. O PLE usando etanol proporcionou o maior rendimento de extração comparado ao scCO₂ puro e scCO₂ + EtOH. Os métodos de extração aqui avaliados pouco afetaram o perfil de ácidos graxos do MPPO. Além disso, os índices de aterogenicidade e trombogenicidade indicaram que o MPPO apresentou boa qualidade lipídica. Além disso, todas as amostras de óleo apresentaram muitos compostos químicos como fenóis, caroteno, aldeído graxo e outras substâncias que apresentam propriedades biológicas. Essa rica

composição sugere que o MPPO pode ser uma matéria-prima em potencial para uma ampla gama de produtos na indústria. Devido à alta eficiência e boas propriedades do óleo obtido, o PLE pode ser considerado uma técnica promissora para a recuperação do conteúdo lipídico das polpas de frutas. Os resultados obtidos podem estimular o cultivo e a exploração sustentável da palmeira *M. maripa*, evitando o desmatamento e contribuindo para a conservação da floresta amazônica.

CAPÍTULO 4

Frutos maduros e não maduros de inajá (*Maximilia maripa*): uma nova fonte de compostos bioativos de alto valor agregado

O conteúdo desse capítulo foi publicado integralmente na *Food Chemistry* e sua formatação segue as normas do referido periódico (Anexo III).

CAPÍTULO 4 – FRUTOS MADUROS E NÃO MADUROS DE INAJÁ (*MAXIMILIA MARIPA*): UMA NOVA FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE ALTO VALOR AGREGADO

RESUMO: As farinhas obtidas a partir das polpas imaturas e maduras de inajá e seus coprodutos, gerados após a extração do óleo foram avaliados pela primeira vez. Além disso, os óleos extraídos usando etanol como solvente também foram analisados. Os óleos apresentaram características térmicas semelhantes, como estabilidade térmica até cerca de 253 °C, além de apresentarem uma rica composição de compostos fenólicos, capacidade antioxidante e conteúdo de carotenoides. Com relação às farinhas integrais e suas contrapartes desengorduradas, seus compostos fenólicos livres e ligados compreendendo ácido gálico, ácido 4-di-hidroxibenzóico, ácido ferúlico, ácido p-coumarico e ácido m-coumarico foram identificados e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência. Além disso, o processo de desengorduramento melhorou a estabilidade térmica e diminuiu o pico de viscosidade de farinhas imaturas e maduras. A presença de amido e compostos bioativos em todas as farinhas de inajá fornece uma justificativa para o desenvolvimento de novos alimentos e produtos não alimentares.

Palavras-chave: Palmeiras amazônicas, frutos de inajá, farinha de inajá, amido de inajá, óleo de inajá, compostos fenólicos, atividade antioxidante, propriedades térmicas

4.1. INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado um dos principais centros de diversidade genética de espécies frutíferas. Os frutos das palmeiras são considerados não tradicionais e/ ou exóticos; no entanto, eles são desconhecidos ou subutilizados, contribuindo para sua extinção devido ao intenso desmatamento local (CURI et al., 2019). Os frutos das palmeiras com potencial tecnológico

promissor incluem o inajá (*Maximiliana maripa*), pupunha (*Bactris gasipaes*), buriti (*Mauritia flexuosa*), bacabá (*Oenocarpus bacaba*), tucumã (*Astrocaryum vulgare*) e outros. Pertencentes à família Arecaceae, seus frutos são utilizados para consumo humano devido à presença de amido, proteínas, fibras e vitaminas (BARBI et al., 2019; SANTOS et al., 2017).

Maximiliana maripa, também é conhecida como inajá. É uma palmeira que pode ser encontrada principalmente no norte do Brasil, e seus frutos comestíveis estão disponíveis em feiras locais, onde são comprados para consumo fresco ou cozidos com farinha de mandioca. Diferentemente de outras conhecidas palmeiras econômicas relevantes no Brasil, como o açaí (*Euterpe oleracea*), os frutos do inajá ainda são pouco investigados. Barbi et al. (2019) avaliaram o potencial do óleo extraído da polpa de inajá madura usando a técnica de extração de fluido pressurizado não convencional. Eles observaram que o óleo de inajá é uma boa fonte de compostos fenólicos bioativos e ácidos graxos e que exibe alta atividade antioxidante.

A polpa do fruto de inajá não maduro ainda não foi caracterizada, reforçando a necessidade de pesquisas sobre esse valioso fruto. A polpa madura já foi estudada por Santos et al. (2017), na qual foram identificados muitos compostos bioativos de interesse, como carotenoides, flavonoides e vitamina C, corroborando com sua alta capacidade antioxidante. Além disso, esses mesmos autores mostraram que a polpa madura possui um teor considerável de amido. O amido é considerado a principal fonte de energia na dieta humana, e devido a suas propriedades físico-químicas são usados em vários seguimentos industriais (BARBI et al., 2018).

Farinhas de frutos como bananas verdes, maçãs e uvas são comumente usadas como ingrediente em várias formulações alimentares, como aditivos ou como substitutos parciais das farinhas de cereais (RESENDE; FRANCA, 2019a). Frutos não convencionais, como o inajá, também podem ter o mesmo potencial de serem usados como ingrediente de farinha em alimentos e outros segmentos. No entanto, não foram encontrados estudos sobre as propriedades funcionais das farinhas da polpa imatura e madura do inajá. A valorização das

espécies vegetais se correlaciona com a redução indireta nas ações de desmatamento. O uso do fruto de inajá, em diferentes estádios de maturidade que ainda não foram explorados comercialmente, poderia fornecer uma fonte essencial de renda para as famílias que vivem da agroindústria local.

O fruto do inajá pode ser usado para diversos fins, o óleo pode ser obtido por diferentes técnicas de extração, como fluidos pressurizados, extração a quente e a frio. No entanto, a farinha desengordurada resultante do processo de extração de óleo é geralmente considerada um resíduo, embora exiba propriedades úteis de interesse em muitas aplicações. Além disso, o teor lipídico remanescente na farinha desengordurada é uma característica atraente para o consumo humano, devido ao fator benéfico de seus ácidos graxos e à presença de compostos fenólicos. Esses tipos de farinhas são de interesse da indústria, incluindo a produção de alimentos humanos, ração animal, fabricação de adesivos e outras aplicações (TEIXEIRA; ÁVILA; HORNUNG; et al., 2018c).

Com base nas considerações acima e na escassez de dados científicos sobre as propriedades da farinha de inajá, a hipótese de nosso estudo é que tanto as farinhas imaturas quanto as maduras, bem como suas contrapartes desengorduradas e os óleos extraídos, possam ser consideradas fontes potenciais de compostos bioativos e as farinhas matéria-prima rica em amido para futuras aplicações industriais. As farinhas foram caracterizadas em termos de propriedades físico-químicas, térmicas, morfológicas, pasta, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante. A identificação e quantificação dos compostos bioativos das farinhas e óleo também foram realizadas.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Amostras integrais

Os frutos de inajá (*Maximiliana maripa* (Aubl) Drude) foram coletados em Breu Branco, Estado do Pará, Brasil, em uma área rural localizada no bioma Amazônico (Latitude:

3 ° 44'14,2 "S; Longitude: 49 ° 28'27,8" W). Os frutos foram colhidos em duas etapas de maturação (não maduro e maduros), de acordo com a cor externa. A coloração dos frutos do inajá quando não maduros varia de bege claro a amarelo com uma polpa bege clara. Os frutos maduros são marrons e com polpas de cor laranja intensa. Os frutos inteiros foram lavados em água e embebidos por 10 min em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm e, em seguida, a polpa foi separada das amêndoas. As polpas foram liofilizadas (Liotop L101, Liobras, Brasil) e moídas usando um moinho de facas (MA630/1, Marconi Ltda., Brasil) para obter as farinhas integrais codificadas como UIF (farinha de inajá imatura) e RIF (farinha de inajá madura). As farinhas foram então armazenadas em sacos de LDPE e seladas a vácuo e mantidas sob refrigeração até o momento da extração do óleo e posterior análise.

4.2.2. Extração do óleo

O óleo de polpa de inajá foi extraído de acordo com o método 920.39 da AOAC (2006) usando a técnica de extração convencional Soxhlet. As amostras (5 gramas) de cada farinha (UIF, RIF) foram pesadas em cartuchos de papel de filtro e inseridas no aparelho Soxhlet (Nova Etica, Curitiba, Brasil), com 200 mL de etanol como solvente. O sistema foi aquecido até a ebulição do solvente e o refluxo foi mantido por seis horas. Após as extrações, o solvente foi evaporado rotativamente (Fisatom, modelo 801, São Paulo, Brasil), a umidade foi removida em um forno de circulação de ar (60 °C) e o óleo obtido armazenado sob refrigeração. No presente estudo, decidimos analisar apenas o óleo extraído com o solvente etanol (IUFO, óleo de farinha imatura madura; IRFO, óleo de farinha madura), uma vez que é considerado um solvente de uso seguro para alimentos e provém de fontes renováveis.

4.2.3. Preparação das farinhas desengorduradas

O processamento das farinhas imaturas e maduras (UIF, RIF) foi descrito na Seção 4.2.1. A farinha desengordurada foi designada como DUIF (farinha desengordurada de inajá não maduro) e DRIF (farinha desengordurada de inajá madura). Após a extração do óleo, as farinhas DUIF e DRIF foram colocadas em um forno de circulação de ar (60 °C) para a remoção total de solvente e depois moídas com o auxílio de um moinho de facas (MA630/ 1, Marconi Ltda., Brasil), resultando em um pó fino (60 *mesh*). Todas as farinhas foram embaladas a vácuo em um saco plástico e armazenadas sob refrigeração até análise posterior.

4.2.4. Análises do óleo e das farinhas de inajá

4.2.4.1. Análises dos óleos

4.2.4.1.1. Conteúdo de carotenoides totais

O β -caroteno total foi avaliado no óleo de inajá seguindo o método relatado por Cuco et al. (2019b). O óleo das farinhas imaturas e maduras foi solubilizado em n-hexano a uma concentração de 1 mg/mL. As soluções foram monitoradas usando um espectrofotômetro UV-visível (Spectro 3000W, Marte Científica, Brasil) a 450 nm. Os resultados do β -caroteno total foram expressos em mg/ 100 g de óleo.

4.2.4.1.2. Extração dos compostos fenólicos do óleo

Os compostos fenólicos presentes no óleo extraído da farinha imatura e madura foram obtidos seguindo o método descrito por Barbi et al. (2019). Amostras de 1 g de cada óleo foram pesadas e diluídas em 90% de metanol, agitadas em vórtex por 10 segundos e centrifugadas. O sobrenadante foi então coletado e armazenado sob refrigeração até a análise. Os extratos

metanólicos foram analisados quanto aos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (ensaio de DPPH, ABTS, FRAP).

4.2.4.1.3. Determinação dos perfis fenólicos dos óleos de inajá usando HPLC-PDA

Os extratos metanólicos das farinhas imaturas e maduras de inajá, obtidos na seção 4.2.4.1.2 foram filtrados através de uma membrana de PVDF de 0,22 μm (Millipore, EUA) e analisados em um aparelho de HPLC (Waters 2695) equipado com um detector de matriz de fotodiodo (PDA) (Waters 996) e amostrador automático (717 plus, Waters). A coluna analítica utilizada foi uma coluna C18 80A de 100 mm x 3 mm, 2,6 μm (ThermoFisher Scientific, EUA). A fase móvel consistiu em A (ácido fórmico a 0,1% em água) e B (ácido fórmico a 0,1% em metanol). As condições de separação por HPLC foram temperatura da coluna de 35 °C, vazão de 0,5 mL / min e volume de injeção de 10 μL . Um gradiente de 25 minutos foi usado da seguinte maneira: 0–3 min, 9% de B; 3-4 min, 14% de B; 4-5 min, 15% de B; 5-8 min, 15% de B; 8-9 min, 19% de B; 9-10 minutos, 19% de B; 10-12 min, 26% de B; 12-13 min, 26% de B; 13-14 min, 28% de B; 14-15 min, 40% de B; 15-16 min, 40% de B; 16-18 min, 48% de B; 18-22 min, 53% de B; 22-23 min, 70% de B; 23–25 min, 9% B. Os compostos fenólicos foram detectados no comprimento de onda de 280 nm. A identificação foi realizada comparando o tempo de retenção e a correspondência espectral com os padrões externos. Os resultados foram obtidos em triplicata e apresentados como $\mu\text{g/g}$ de amostra de óleo.

4.2.4.1.4. Decomposição térmica por termogravimetria

A estabilidade térmica do óleo extraído foi analisada usando um equipamento termogravimétrico TGA 4000 (PerkinElmer Inc. Waltham, MA, EUA). Amostras de óleo (10 mg) foram colocadas na panela de platina e depois em um forno. Cada óleo foi aquecido de 30

°C à 750 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ sob atmosfera de ar sintético (White Martins S.A., 99,9% de pureza) com uma taxa de fluxo de 50 mL min⁻¹. Os dados sobre a perda de massa de amostras de óleo foram adquiridos usando o software PyrisTM.

4.2.4.2. Análises das farinhas

4.2.4.2.1. Caracterização físico-química e análise de cor

A umidade, lipídios totais, conteúdo mineral total e teor de proteínas foram medidos de acordo com os métodos oficiais do AOAC (2000). A umidade (método 930.15) foi avaliada por secagem em estufa a 105 °C até massa constante; lipídios totais (método 920.39) foram realizados por extração exaustiva usando éter de petróleo como solvente no aparelho Soxhlet; o conteúdo mineral total (método 942.05) foi quantificado após incineração em uma mufla a 550 °C; a proteína total (método 990.03) foi determinada pelo método de Kjeldahl. O teor total de carboidratos foi calculado pela diferença como 100 (% de umidade +% de cinza +% de lipídios +% de proteína +% de amido total). A análise do amido total foi determinada usando um kit de teste (K-TSTA, Megazyme, Bray, Irlanda), com base na hidrólise do amido com α -amilase termoestável e amiloglicosidase. Este método foi oficialmente adotado pela AACC (76-13.01, AACC, 2003). O conteúdo de amilose foi avaliado usando um kit de teste de amilose-amilopectina (K-AMYL, Megazyme, Bray, Irlanda). Os parâmetros de cores das farinhas de inajá foram medidos usando o MiniScan XE plus colorímetro (HunterLab, Alemanha) e expressos em valores do sistema de cores CIElab, conforme descrito por Teixeira; Ávila; Hornung; et al. (2018c).

4.2.4.2.2. Propriedades morfológicas das farinhas integrais e desengorduradas

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier no modo de refletância difusa (DRIFTS) foi realizada para as farinhas utilizando um espectrômetro Vertex-70 (Bruker, EUA) a 25 °C. Todos os espectros foram registrados dentro de um intervalo de 500 a 4000/ cm, com um spectral resolução de 4/ cm e 1024 digitalizações.

O grau de cristalinidade relativa das farinhas foi determinado usando os padrões de difração adquirida (DRX) registrados por um difratômetro de raios X (Bruker, modelo D8 Advance). A radiação empregada foi Cu K α ($\lambda = 1,5406$ Å), fixada em 40 kV e 20 mA, detectada na faixa angular de 5° a 80° (2 θ), com velocidade de varredura de 2°/ min e passo de 0,041°.

Os grânulos de amido nas amostras de farinha foram observados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) através de um microscópio Tescan Vega 3 (Kohoutovice, República Tcheca). As micrografias (ampliação 2000x) foram obtidas sob baixo vácuo. O diâmetro médio dos grânulos foi calculado usando o *software* livre ImageJ (versão 1.49 v).

4.2.4.2.3. Propriedades de pasta

As propriedades de pasta das amostras de farinhas de inajá foram medidas usando um Rapid Visco Analyzer (RVA, modelo RVA-4, Newport Scientific, Warriewood, Austrália) seguindo o método descrito por HORNUNG et al. (2018a). Uma suspensão preparada com 2,24 g de cada amostra em 25,76 g de água destilada passou por um ciclo controlado de aquecimento e resfriamento sob cisalhamento constante. Inicialmente, foi mantida a 50 °C - 2 min e depois aquecida de 50 °C a 95 °C a uma taxa de 6 °C/ min, mantendo essa temperatura por 5 min. Por fim, as amostras foram resfriadas a 50 °C a uma taxa de 6 °C/ min e mantidas a essa temperatura por 2 min. Os resultados em triplicatas foram obtidos usando o software Thermocline 2.2.

4.2.4.2.3. Análises térmicas

A avaliação da estabilidade térmica das farinhas foi realizada por curvas termogravimétricas obtidas com um equipamento TGA 4000 (PerkinElmer Inc. Waltham, MA, EUA). Os perfis térmicos das amostras de farinha foram analisados em atmosfera de ar a 50 mL/ min e a temperatura variou de 30 °C a 650 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/ min. Os dados sobre a perda de massa das farinhas foram adquiridos usando o software PyrisTM.

4.2.4.2.4. Análises de carotenoides totais

A quantificação dos carotenoides totais das farinhas de inajá foi avaliada de acordo com Lichtenthaler; Buschmann (2001) e adaptações de LEÃO et al. (2017) com algumas modificações. Cada farinha (1 g) foi dissolvida em 20 mL de acetona e agitada no vórtex por 10 segundos. A mistura foi então centrifugada a 5000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante foi coletado e monitorado a 470 nm (carotenóides totais), 644 nm (clorofilas B) e 661 nm (clorofilas A) usando um espectrofotômetro UV-visível (Spectro 3000W, Marte Científica, Brasil). Os resultados dos carotenoides totais foram obtidos em triplicada e expressos em mg de carotenoides totais/ 100 g de farinha, levando em consideração o conteúdo obtido das clorofilas B e A.

4.2.4.2.4. Extração dos compostos fenólicos das farinhas

As frações de extrato fenólico livre e ligado das farinhas imaturas e maduras foram obtidas de acordo com o método descrito por Hornung; Masisi; et al. (2018b) com modificações. Para a fração livre, 1 g de amostra (triplicata) foi pesado e extraído duas vezes com metanol acidificado à 80% (1% HCl), sonificado por uma hora à temperatura ambiente,

seguida por centrifugação à 1000 rpm por 10 minutos. Os sobrenadantes foram combinados e secos sob nitrogênio à 38 °C, depois reconstituídos com 300 µL de metanol a 50%. Para a fração ligada, 500 mg de amostra (triplicata) foram pesados em tubos de vidro de 15 mL. Em seguida, foram adicionados 10 mL de NaOH 4 M e a mistura foi deixada na geladeira durante a noite. As amostras foram então acidificadas em pH 1,0 com HCl 6 M (\pm 3 mL), submetidas a vórtice e centrifugadas a 10000 rpm a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e a amostra restante foi lavada com 2,5 mL de H₂O pura, agitada em vórtex e centrifugada. Os sobrenadantes foram reunidos e extraídos com 5 mL de acetato de etila. A fração de acetato de etila foi seca sob nitrogênio à 35 °C e reconstituída com 600 µL de metanol aquoso a 50%. Após a reconstituição, as amostras foram filtradas através de um filtro de seringa (0,22 µm, HV Millipore, DuraPore). Os extratos livres e ligados foram analisados para obter o conteúdo total de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante utilizando os ensaios DPPH, ABTS, FRAP.

4.2.4.2.4. Quantificação dos compostos fenólicos totais e ensaios antioxidantes *in vitro*

Os compostos fenólicos totais (TPC) e a capacidade de eliminação de radicais DPPH, ABTS e o teste de poder antioxidante férrico (FRAP) das farinhas integrais e dos extratos de óleo foram realizados em microplacas de 96 poços e lidos em um espectrofotômetro Epoch (Synergy-BIOTEK, EUA). O conteúdo de TPC dos extratos livres e ligados obtidos das farinhas (Seção 4.2.4.2.4) e dos extratos metanólico do óleo (Seção 4.2.4.1.2) foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, conforme descrito em detalhes por BARBI et al. (2019). A absorbância foi medida à 720 nm após 60 min de incubação e os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de amostras. O ensaio de eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazil) foi realizado seguindo o método adaptado por Barbi et al., (2018) com pequenas modificações. Resumidamente, 10 µL dos extratos da amostra foram adicionados em 190 µL de solução de radical DPPH. Após 30 min de incubação,

a absorbância foi obtida à 517 nm. A atividade de eliminação do ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenztiazolina-6-sulfônico) foi realizada usando o método proposto por RE et al. (1999). O radical catiônico ABTS •⁺ foi preparado a partir de uma solução estoque de 7 mmol/L de ABTS e 140 mmol/L de solução de persulfato de potássio e permaneceu por 16 horas a 25 °C no escuro. A solução ABTS •⁺ foi diluída com metanol e a absorbância foi ajustada para 0,700 a 734 nm. Por fim, 300 µL da solução ABTS e 10 µL de cada extrato foram adicionados à microplaca, que foi mantida no escuro por 30 min, e a leitura da absorbância foi imediatamente registrada à 734 nm. O poder antioxidante redutor férrico (FRAP) foi realizado de acordo com o método descrito por BENZIE; STRAIN (1996), após 30 min de incubação no escuro a absorbância foi medida à 593 nm. Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) foi usado como padrão para os ensaios DPPH, ABTS e FRAP e os resultados foram expressos como µmol equivalente de Trolox (µM TE) por 100 g de amostras.

4.2.4.2.5. Perfis fenólicos de frações livres e ligadas por HPLC-PDA

As frações de extrato fenólico livre e ligado das farinhas cruas de inajá e suas amostras desengorduradas foram obtidas seguindo o método descrito por HORNUNG; MASISI; et al., (2018b). A análise dos perfis fenólicos nas farinhas foi realizada utilizando um HPLC (Waters 2695) equipado com um detector de matriz de fotodiodo (PDA) (Waters 996) e amostrador automático (717 plus, Waters). A coluna analítica era uma coluna C18 80A de 100 mm x 3 mm, 2,6 µm (ThermoFisher Scientific, EUA). A fase móvel consistiu em A (ácido fórmico a 0,1% em água) e B (ácido fórmico a 0,1% em metanol). As condições de separação por HPLC foram temperatura da coluna de 35 °C, vazão de 0,5 mL / min e volume de injeção de 10 µL. Um gradiente de 25 minutos foi usado da seguinte maneira: 0–3 min, 9% de B; 3-4 min, 14% de B; 4-5 min, 15% de B; 5-8 min, 15% de B; 8-9 min, 19% de B; 9-10 minutos, 19% de B; 10-12 min, 26% de B; 12-13 min, 26% de B; 13-14 min, 28% de B; 14-15 min, 40% de B; 15-16 min,

40% de B; 16-18 min, 48% de B; 18-22 min, 53% de B; 22-23 min, 70% de B; 23–25 min, 9% B. Os compostos fenólicos foram detectados no comprimento de onda de 280 nm. A identificação foi realizada comparando o tempo de retenção e a correspondência espectral com os padrões externos. Os resultados foram obtidos em triplicado e expressos em $\mu\text{g/g}$ de amostra de farinha.

4.2.5. Análise estatística

Todos os resultados foram obtidos em triplicata (média \pm desvio padrão), e os dados experimentais foram analisados quanto à variância usando ANOVA, e o teste de Tukey foi utilizado para comparações múltiplas das médias com nível de confiança de 95% ($p < 0,05$) usando o software Statistica 10.0 (StatSoft, Inc, Tulsa, OK, EUA). A correlação de Pearson foi realizada para determinar a correlação entre o conteúdo lipídico e os parâmetros de cor.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Óleo de inajá

4.3.1.1. Conteúdo de carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante

O conteúdo total de β -caroteno, a atividade fenólica total e a atividade antioxidante do óleo de polpa de inajá não maduro e maduro são apresentadas na **Tabela 4.1**. Diferenças significativas ($p < 0,05$) no conteúdo de carotenoides entre o estágio de maturação das farinhas de inajá foram observadas.

Tabela 4.1. Carotenoides totais, conteúdo fenólico total e capacidade antioxidante das amostras de óleo e farinha de inajá

Análise das Carotenoides totais, conteúdo fenólico total e capacidade antioxidante de óleo e farinha de manga									
Amostra de óleo	Carotenoides (mg/100g)	TPC (mg GAE/100g)		DPPH (μmol TE/100g)		ABTS (μmol TE/100g)		FRAP (μmol TE/100g)	
IUFO	76,21 ^b ± 0,21	35,77 ^a ± 0,04	682,13 ^a ± 0,01	556,45 ^a ± 3,20	186,55 ^a ± 0,40				
IRFO	96,98 ^a ± 0,20	14,01 ^b ± 0,08	603,10 ^b ± 0,35	542,79 ^b ± 0,53	50,13 ^b ± 0,48				
Amostra de Farinha	Carotenoides (mg/ 100g)	TPC (mg GAE/100g)		DPPH (mmol TE/100g)		ABTS (mmol TE/100g)		FRAP (mmol TE/100g)	
		Livre	Ligado	Livre	Ligado	Livre	Ligado	Livre	Ligado
UIF	158,59 ^c ±5,29	66,79 ^a ±3,42	788,98 ^b ±3,11	1025,04 ^a ±2,80	895,42 ^c ±14,00	420,50 ^a ±2,03	1077,95 ^c ±1,25	404,75 ^a ±6,32	2940,68 ^b ±9,91
RIF	310,13 ^a ±2,64	26,17 ^b ±0,85	487,62 ^d ±0,48	461,24 ^b ±21,73	344,82 ^d ±2,80	276,71 ^b ±7,51	1185,79 ^a ±6,59	200,02 ^c ±10,07	2509,38 ^c ±18,01
DUIF	42,29 ^d ±8,81	31,07 ^b ±6,64	872,81 ^a ±14,10	534,85 ^b ±4,20	1228,81 ^a ±6,05	99,85 ^d ±1,02	1028,70 ^d ±12,15	224,96 ^b ±4,74	2930,26 ^b ±12,66
DRIF	125,11 ^b ±10,57	13,16 ^c ±1,78	596,30 ^c ±5,02	83,62 ^c ±9,77	1022,17 ^b ±2,80	144,90 ^c ±7,20	1109,94 ^b ±3,47	90,33 ^d ±1,87	3067,24 ^a ±19,83

Letras diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). IUFO: óleo de farinha imatura de inajá; IRFO: óleo de farinha madura inajá; UIF: farinha imatura de inajá; RIF: farinha imatura de inajá madura; DUIF: farinha imatura de inajá desengordurada; DRIF: farinha inajá madura desengordurada. FONTE: A autora (2020).

Pertencentes a um grupo de pigmentos tetraterpenóides naturais e presentes em plantas, algas, fungos, bactérias, os carotenoides desempenham papéis essenciais na fotossíntese e fotoproteção. Os carotenoides também atuam como moléculas sinalizadoras para mediar o desenvolvimento da planta e as respostas aos invasores externos (SUN et al., 2018). A amostra de IRFO exibiu um conteúdo de β -caroteno aproximadamente 21% maior em comparação com o IUFO.

Em relação ao conteúdo fenólico total (TPC), os óleos extraídos das farinhas de polpa de inajá imaturas e maduras apresentaram potencial como fontes de compostos fenólicos naturais, 35,77 mg de GAE/ 100 g para IUFO e 14,01 mg de GAE/ 100 g para IRFO. Com uma recuperação de óleo de 16,35%, o extrato de óleo da polpa imatura teve aproximadamente 3x mais TPC que o IRFO, que teve uma extração de rendimento de 52,57%. De acordo com Gull et al. (2012), o conteúdo fenólico total presente nos frutos pode diminuir durante o amadurecimento e esse comportamento está relacionado à oxidação de compostos fenólicos pelo polifenol oxidase e/ou à conversão de fenólicos solúveis em compostos insolúveis que estão ligados a polissacarídeos na parede celular.

A atividade antioxidante *in vitro* foi medida pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP e os valores resultantes para o óleo de polpa imatura e maduro diferiram significativamente ($p < 0,05$). A amostra de óleo obtida da polpa imatura (IUFO) apresentou maior capacidade antioxidante nos três testes utilizados (DPPH, ABTS e FRAP) do que a amostra do IRFO, o que foi consistente com os resultados do TPC. Os resultados indicaram que a polpa madura de frutos de inajá também pode fornecer uma boa fonte de antioxidantes. Além disso, a atividade de eliminação radical livre não se atribui apenas aos compostos fenólicos, mas também com outros compostos antioxidantes, como carotenoides, que foram identificados no óleo de inajá (**Tabela 4.1**).

Considerando possíveis aplicações para os óleos de inajá pela indústria, o uso de etanol como solvente proporciona a recuperação de compostos bioativos valiosos, com nenhum solvente residual de etanol considerado seguro para consumo humano, quando comparado ao metanol, acetona e hexano, que podem deixar resíduos tóxicos (PEDRO et al., 2018).

4.3.1.2. Perfil fenólico dos extratos metanólicos dos óleos de inajá

A **Tabela 4.2** mostra a concentração de ácidos fenólicos dos extratos metanólicos do óleo de inajá analisados por HPLC-PDA. O principal composto detectado no óleo extraído da farinha de polpa imatura (IUFO) foi o ácido p-cumarico (22,44 µg/g); no entanto, o mesmo composto não foi detectado no óleo extraído da polpa da farinha madura (IRFO). Como se pode observar, o ácido p-coumarico também não estava presente na forma livre da farinha de inajá madura.

Outros compostos que apareceram em concentrações relativamente altas na amostra de IUFO foram o ácido 4-hidroxibenzóico, ácido gálico e ácido m-cumarico, em ordem decrescente. Também foram identificados ácidos serínico e ferúlico, embora em baixas concentrações no extrato metanólico do óleo não maduro.

Em relação ao óleo obtido da farinha de polpa madura (IRFO), os principais compostos presentes foram o ácido 4-hidroxibenzóico (20,24 µg/g) e ácido m-cumarico (10,68 µg/g). Além disso, a amostra do IRFO apresentou o menor conteúdo de compostos bioativos quando comparada ao IUFO. Esses resultados confirmaram que a farinha de polpa de inajá imatura continha um nível mais alto de compostos fenólicos do que a farinha derivada da polpa madura.

Tabela 4.2. Compostos bioativos identificados em amostras de inajá por HPLC-DAD

Compostos bioativos ($\mu\text{g/g}$)	IUFO	IRFO	UIF		RIF		DUIF		DRIF	
			Livre	Ligado	Livre	Ligado	Livre	Ligado	Livre	Ligado
Ácido gálico	13,94 ^{bc} \pm 2,97	7,47 ^c \pm 0,65	481,39 ^a \pm 0,06	12,90 ^c \pm 2,61	50,61 ^b \pm 0,02	84,36 ^{ab} \pm 0,01	nd	67,30 ^b \pm 9,22	nd	90,71 ^a \pm 0,03
Ácido 4-hidroxibenzoico	16,66 ^b \pm 0,24	20,24 ^a \pm 0,03	35,01 ^c \pm 0,10	281,30 ^b \pm 5,23	75,13 ^a \pm 1,02	40,91 ^d \pm 0,03	61,20 ^b \pm 0,06	625,83 ^a \pm 0,83	nd	152,84 ^c \pm 0,29
Ácido siríngico	3,56 ^d \pm 0,22	nd	4,11 ^b \pm 0,05	34,33 ^a \pm 0,19	nd	30,84 ^b \pm 0,03	22,63 ^a \pm 0,01	nd	nd	28,25 ^c \pm 0,04
Ácido ferulico	5,19 ^d \pm 0,23	3,47 ^d \pm 0,65	9,65 ^b \pm 0,01	35,65 ^c \pm 0,07	5,88 ^c \pm 0,01	22,12 ^d \pm 0,03	nd	69,65 ^a \pm 2,27	18,61 ^a \pm 6,07	56,25 ^b \pm 0,04
Ácido <i>m</i> -coumaric	12,43 ^c \pm 0,52	10,68 ^b \pm 0,16	16,59 ^c \pm 0,01	nd	24,12 ^b \pm 0,03	nd	51,42 ^a \pm 0,01	nd	nd	nd
Ácido <i>p</i> -coumaric	22,44 ^a \pm 2,61	7,87 ^c \pm 0,25	46,23 ^b \pm 0,01	8,35 ^a \pm 0,06	nd	7,46 ^b \pm 0,02	130,91 ^a \pm 0,01	6,61 ^c \pm 0,50	9,43 ^b \pm 5,73	5,48 ^d \pm 0,06
<i>Soma dos fenólicos livres</i>	nd	nd	592,98		155,74		266,16			28,04
<i>Soma dos fenólicos ligados</i>	nd	nd	372,53		185,69		769,39			333,53
<i>Total</i>	74,22	49,73	965,51		317,31		1035,55			415,69

Letras diferentes em cada coluna significam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). UIF: óleo de farinha imatura de inajá; IRFO: óleo de farinha madura de inajá; UIF: farinha de inajá não maduro; RIF: farinha de inajá madura; DUIF: farinha de inajá não maduro desengordurada; DRIF: farinha de inajá madura desengordurada; nd: não detectado. FONTE: A autora (2020).

Os compostos ácidos p-hidroxibenzóico, ácido ferúlico e ácido p-cumarico, que foram identificados no óleo de inajá, também foram encontrados em outras palmeiras nativas da Amazônia, como na patawa, bacaba-de-leque, juçara, açaí e buriti (AGOSTINI-COSTA, 2018).

Estudos dos compostos bioativos de frutos exóticos/ não convencionais são sempre um desafio, pois um grande número de uma variedade de substâncias pode estar presente em diferentes concentrações e de várias formas, de forma livre ou ligadas a outras estruturas da parede celular. A falta de dados sobre a composição fenólica do óleo de inajá é reconhecida. Os resultados obtidos neste estudo mostraram que o óleo de inajá é semelhante em termos de compostos fenólicos a outros óleos de palma, incluindo o açaí, que já foram amplamente explorados. Assim, esse óleo pode ser considerado potencialmente valioso para uso industrial.

4.3.1.3. Decomposição térmica

A **Figura 4.1** (a, b) mostra os resultados das análises termogravimétrica (TG) e derivada termogravimétrica (DTG), representando a perda de massa versus temperatura do óleo extraído da farinha imatura e madura, respectivamente.

Os perfis térmicos das amostras de óleo de inajá apresentam características semelhantes, e a decomposição térmica ocorreu em três estágios, na faixa de 250 °C a 660 °C. No que diz respeito à estabilidade térmica, uma medida de quanto tempo a amostra bruta pode permanecer inalterada sob o aumento da temperatura, ambos os óleos obtidos da farinha imatura e madura permaneceram intactos até aproximadamente 253 °C. Pelo contrário, os óleos de inajá extraídos com éter de petróleo e *n*-hexano (BARBI et al., 2019) utilizando o aparelho Soxhlet, mostraram uma estabilidade ainda maior, atingindo 280 °C e 287 °C, respectivamente. O comportamento térmico dos óleos de inajá observado neste estudo pode estar relacionado às diferenças na composição dos ácidos graxos, mas também à presença de antioxidantes naturais, que tendem

a proteger os óleos contra a oxidação, retardando sua degradação (TEIXEIRA; ÁVILA; HORNUNG; et al., 2017).

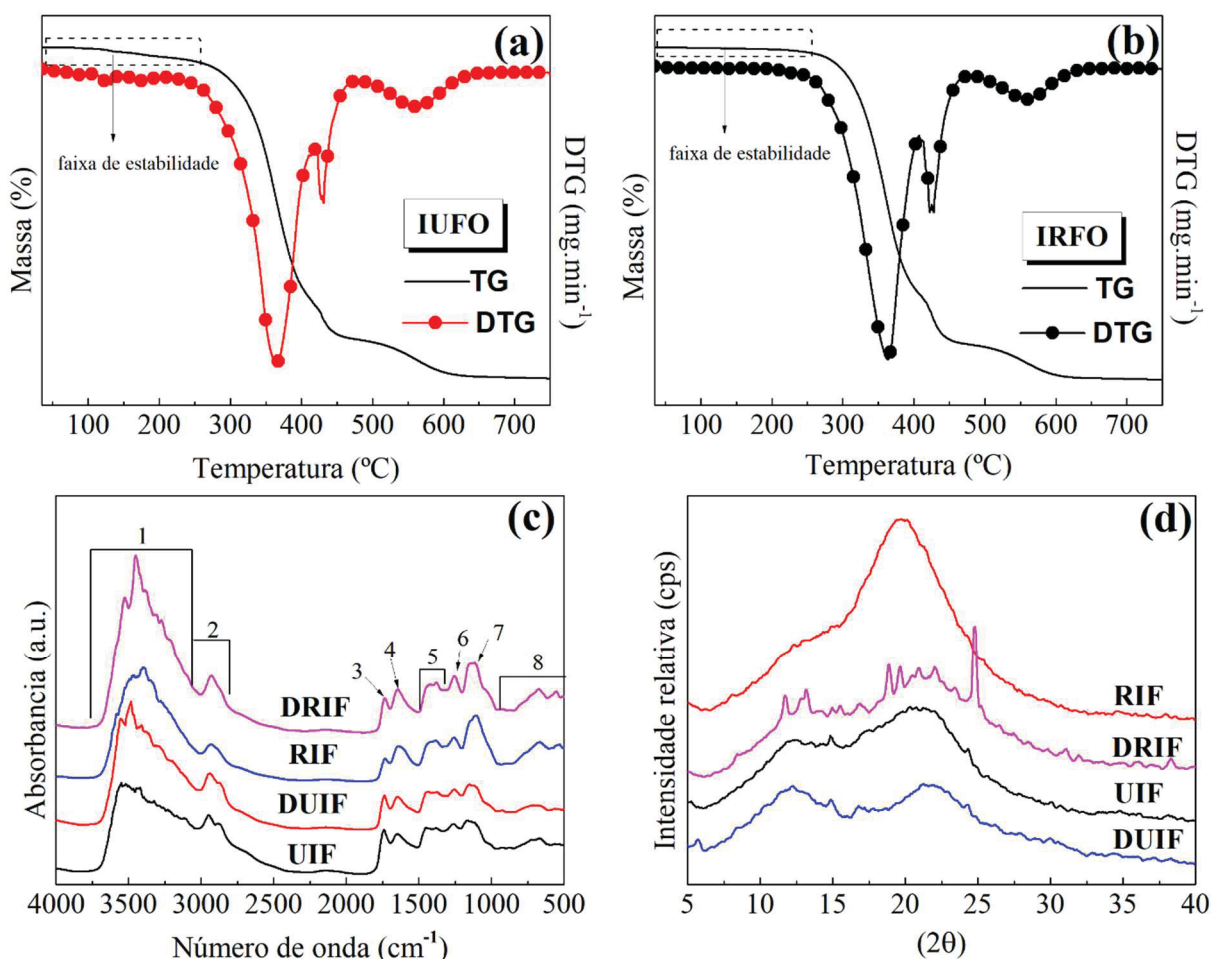


Figura 4.1 (a), (b) comportamento térmico do óleo de inajá; (c) espectro DRIFTS de farinhas de inajá na região de 4.000-500 cm⁻¹. (d) Difrátograma mostrando o perfil radiográfico das farinhas de inajá. FONTE: A autora (2020).

No primeiro estágio em que a temperatura variou de 253 °C a 409 °C, a perda de massa para o IUFO foi de 78,34%. O IRFO teve uma perda de massa de 72,60% e a temperatura variou de 250 °C a 411 °C. Essa perda pode ser atribuída à decomposição térmica dos ácidos graxos poli-insaturados (TEIXEIRA; ÁVILA; HORNUNG; et al., 2018). Embora o IUFO tenha apresentado maior faixa de estabilidade que o IRFO, a amostra de óleo da polpa imatura apresentou uma perda de massa $\approx 7\%$ maior do que a última na primeira etapa.

O segundo estágio de decomposição térmica ocorreu em uma faixa de temperatura de 409 °C à 462 °C e 411 °C à 467 °C com uma perda de massa correspondente de 15,41% e 12,47%, respectivamente para o IUFO e IRFO. Valores semelhantes foram observados para o óleo de inajá extraído com propano subcrítico (BARBI et al., 2019). No entanto, quando comparado ao óleo extraído com éter de petróleo (6,66%) e n-hexano (5,90%), foi observada uma perda de massa substancial para os óleos atuais. O segundo estágio corresponde à decomposição de ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido oleico (NETO et al., 2009; TEIXEIRA; GHAZANI; et al., 2018c). O terceiro e último estágio ocorreram em uma faixa de temperatura de 462 °C à 644 °C com perda de massa de 11,51% para o IUFO e de 467 °C a 652 °C com perda de massa de 11,78% para o IRFO. Esta etapa está relacionada à decomposição dos ácidos graxos saturados, como os ácidos palmítico (BARBI et al., 2019; TEIXEIRA; ÁVILA; SILVEIRA; et al., 2017).

4.3.2. Farinhas de inajá

4.3.2.1. Caracterização físico-química e análise de cores

Os parâmetros físico-químicos das farinhas de inajá integrais e desengorduradas estão apresentados na **Tabela 4.3**. Todas as amostras apresentaram valores de umidade abaixo do limite recomendado de 15% (BRASIL, 2005), corroborando para uma menor incidência de proliferação de microrganismos e reações químicas indesejáveis.

O teor de cinzas variou de 0,87% a 1,09%, semelhante aos resultados obtidos para farinhas de buriti e pequi (LEÃO et al., 2017; RESENDE, FRANCA, & OLIVEIRA, 2019b). Não houve diferenças estatísticas no conteúdo de proteínas das farinhas UIF, DUIF e DRIF (aproximadamente 4%). A farinha de maturação madura (RIF) apresentou o menor teor de proteína em comparação com outras farinhas, enquanto o processo de desengorduramento (DRIF) quase dobrou o teor de proteína. Segundo Teixeira; Ávila; Hornung; et al. (2018b), após

a remoção da fração lipídica das farinhas integrais, as proporções de outras substâncias na amostra desengordurada tendem a aumentar naturalmente.

Embora o solvente etanol tenha apresentado boa eficiência de extração, rendimento de 52% para RIF e 16% para UIF, a gordura residual variou de 0,78% a 1,10%. O conteúdo lipídico das farinhas desengorduradas de DRIF e DUIF foi semelhante às farinhas convencionais, como trigo (1,1%) e milho (1,1%) (LI & ZHU, 2019). O estágio de maturação teve influência significativa ($p < 0,05$) no teor de carboidratos de todas as farinhas de inajá. A amostra do UIF apresentou maior conteúdo de carboidratos (59%) em comparação ao RIF. O desengorduramento das farinhas integrais levou a um aumento no teor de carboidratos.

O teor total de amido das farinhas integrais de inajá e seus produtos desengordurados não foi significativamente influenciado ($p > 0,05$) pelo estágio de maturação, conforme mostrado na Tabela 4.3. De acordo com Li & Zhu (2019), o amido (13%) encontrado na farinha da polpa de kiwi podem ser consideradas uma fonte de amido não convencional e é provável que a farinha de amido de inajá seja vista como tal. Santos et al. (2017), também identificaram amido na polpa de inajá madura, mas a quantidade (4,61%) encontrada foi menor quando comparada à presente (8,72%). O teor de amilose das farinhas variou de 18,04% a 28,24%. A polpa madura (RIF) apresentou o maior teor de amilose, seguida pela DRIF, cujos resultados foram semelhantes aos relatados para o amido de cará branco não convencional (HORNUNG, BARBI, et al., 2018a). O conteúdo da fração de amilose presente em amostras ricas em amido depende da cultivar, condições de crescimento, estágio de maturação e variedades de plantas (BARBI et al., 2018).

Tabela 4.3. Composição centesimal, teor total de amido, amilose e amilopectina e valores de cor das farinhas de inajá

Amostra	Composição centesimal (%)					
	Umidade	Cinzas	Proteína	Lípido	Carboidratos	Amido total
UIF	10,11 ^b ± 0,06	1,06 ^a ± 0,60	3,92 ^a ± 0,13	16,35 ^b ± 1,51	59,43 ^b ± 1,56	9,13 ^b ± 0,19
RIF	11,71 ^a ± 0,29	1,09 ^a ± 0,52	2,54 ^b ± 0,06	52,57 ^a ± 0,41	23,37 ^c ± 1,46	8,72 ^b ± 0,27
DUIF	7,55 ^d ± 0,20	0,87 ^a ± 0,72	3,90 ^a ± 0,06	1,10 ^c ± 0,05	73,55 ^a ± 1,12	13,03 ^a ± 0,67
DRIF	8,57 ^c ± 0,22	0,98 ^a ± 0,28	4,01 ^a ± 0,01	0,78 ^c ± 0,10	73,29 ^a ± 0,11	12,37 ^a ± 0,55
Conteúdo de amilose e amilopectina						
	Cor ¹					
	Amilose (%)		Amilopectina(%)		L *	
UIF	19,28 ^c ± 0,66		80,71 ^a ± 0,66		76,09 ^c ±0,02	
RIF	28,24 ^a ± 0,90		71,76 ^b ± 0,90		70,95 ^d ±0,01	
DUIF	18,04 ^c ± 1,48		81,96 ^a ± 1,48		79,84 ^b ±0,04	
DRIF	26,12 ^b ± 1,43		73,88 ^b ± 1,42		81,14 ^a ±0,01	
					a *	
					b *	
					5,37 ^b ±0,01	
					18,22 ^a ±0,02	
					4,52 ^c ±0,02	
					4,57 ^c ±0,01	
					24,77 ^c ±0,01	

¹ CIEL * a * b * sistema de cores (L * luminosidade. a * coordenada vermelha/ verde. b * coordenada amarela/ azul). Letras diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey (p <0,05). UIF: farinha de inajá não maduro; RIF: farinha de inajá madura; DUIF: farinha de inajá não maduro desengordurada; DRIF: farinha inajá madura desengordurada. FONTE: A autora (2020).

Imagens das farinhas integrais de inajá e seus sub-produtos desengordurados são mostradas na **Fig. 4.2b**, enquanto os resultados da análise de cores são mostrados na **Tabela 4.3**. Todos os parâmetros de cores apresentaram uma alta correlação ($r = 0,970$) com o teor de óleo.

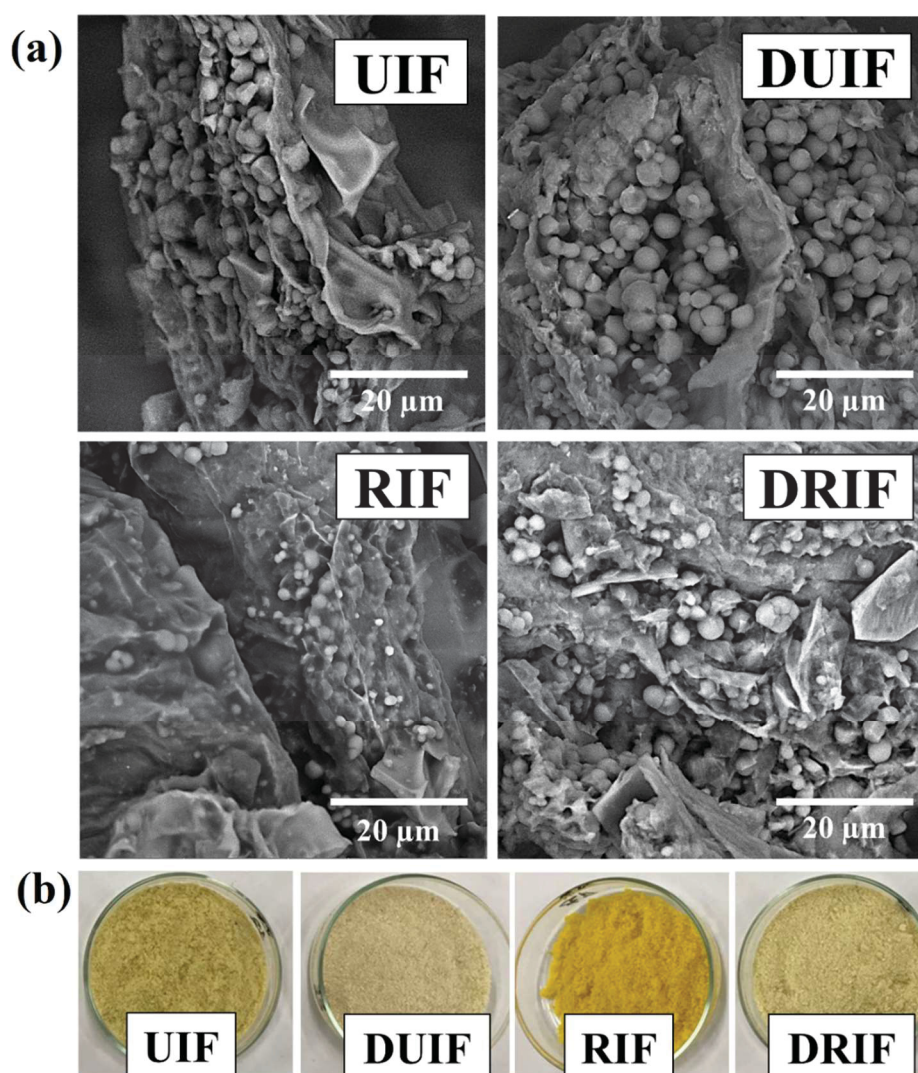


Figura 4.2 (a) Microscopia eletrônica de varredura de grânulos de farinha de inajá com ampliação de 2000x; b) Farinhas de inajá produzidas. UIF: farinha de inajá não maduro RIF: farinha de inajá maduro; DUIF: farinha de inajá não maduro desengordurada; DRIF: farinha inajá maduro desengordurada. FONTE: A autora (2020).

O parâmetro de cor L^* , referente à luminosidade variou significativamente ($p < 0,05$) entre 70,95 e 81,14. Os valores de L das farinhas de inajá foram altos em comparação com a

farinha de outros frutos da palmeira, como a farinha de buriti (53,13 – 62,38) (RESENDE; FRANCA; OLIVEIRA, 2019a). A correlação de L^* com o conteúdo lipídico foi inversamente proporcional ($r = -0,979$) com o alto teor lipídico da amostra RIF resultando em menor valor L^* , enquanto as farinhas desengorduradas (DUIF, DRIF) apresentaram maiores valores de luminosidade, destacando a amostra DRIF.

O parâmetro a^* , que representa tons avermelhados, apresentou valores positivos e diferentes ($p < 0,05$) para as farinhas integrais que variaram de 5,37 - 18,22, enquanto não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para farinhas desengorduradas (4,52 - 4,57). Os resultados obtidos para o parâmetro b^* mostraram que a amostra RIF apresentava uma cor mais amarelada do que as outras amostras. Isso pode ser atribuído ao alto conteúdo de carotenoides presentes na polpa madura, como mostrado na Tabela 4.1. Além disso, os valores de b^* também mostraram uma correlação positiva ($r = 0,981$) com o conteúdo lipídico.

4.3.2.2. Propriedades morfológicas

Alterações na estrutura química de farinhas de inajá imaturas e maduras, e seus produtos desengordurados foram estudados usando FTIR, como mostra a **Fig. 4.1c**. Bandas características podem ser observadas em todos os espectros, com diferenças de acordo com o estágio de maturação, umidade residual, processo de remoção de lipídios e componentes menores. A primeira região de alta absorção $3700\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ (1) compreende a vibração de alongamento dos grupos O-H (TEIXEIRA; ÁVILA; HORNUNG; et al., 2018a; WANI et al., 2016), com picos mais acentuados encontrados nas amostras desengorduradas. A região (2) abrange hidrocarbonetos e ácidos carboxílicos (BHAT; YAHYA, 2014); um pico maior em 2947 cm^{-1} correspondente à vibração assimétrica de alongamento do grupo --CH_2 é observado em todas as amostras, enquanto para UIF e DUIF, uma segunda banda é vista a 2875 cm^{-1} devido ao alongamento da C – H ligações de grupos --CH_3 (TEIXEIRA; ÁVILA; HORNUNG;

et al., 2018a). A banda 1737 cm^{-1} (3) é atribuída à presença de ésteres carbonílicos (LEÃO et al., 2017; TEIXEIRA; ÁVILA; HORNUNG; et al., 2018a). De 1700 a 1200 cm^{-1} , podem ser observadas as bandas características de componentes menores, como lipídios e proteínas.

A banda larga em 1647 cm^{-1} (4) pode ser um pico composto por bandas sobrepostas atribuídas a amins e outros grupos proteicos, como as amidas I e II (BHAT; YAHYA, 2014; LEÃO et al., 2017; WANI et al., 2016); a região de $1500\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$ (5) compreende vibrações C-H de glicerol e a deformação angular do grupo metil em ésteres (TEIXEIRA; ÁVILA; HORNUNG; et al., 2018a; WANI et al., 2016); e a banda em 1259 cm^{-1} (6) refere-se à ligação N-H nos grupos amida III (TEIXEIRA; ÁVILA; HORNUNG; et al., 2018a). A última banda sinalizada em 1163 cm^{-1} (7) está localizada na região correspondente a vibrações decorrentes de diferentes grupos funcionais encontrados em anéis de polissacarídeos no amido (LEÃO et al., 2017; TEIXEIRA; ÁVILA; HORNUNG; et al., 2018a), que mais uma vez é mais pronunciado nas amostras com maior teor de amido. Todas essas observações indicam que o processo de remoção de óleo das farinhas brutas causa mudanças significativas nas propriedades químicas das amostras, enquanto a região das impressões digitais (abaixo de 900 cm^{-1}) mantém suas características. As amostras desengorduradas mostraram picos de absorção mais nítidos e definidos devido à ausência de lipídios que mascarariam os picos característicos de certos grupos funcionais, como pode ser visto nos espectros das amostras brutas. Em geral, foi possível confirmar através dos espectros do FTIR que o processo de desengorduramento causou alterações nos perfis químicos das farinhas de inajá.

Os difratogramas de raios X (DRX) foram obtidos para medir a cristalinidade relativa dos grânulos de amido presentes nas farinhas de inajá integral e desengordurada. A **Fig. 4.1d** mostra as intensidades de pico, enquanto a Tabela 4.4 lista a cristalinidade relativa calculada (%). A amostra do RIF apresentou um pico único em torno de 19° e após o desengorduramento, a presença de outros picos foi observada em 12° , 19° e 24° (DRIF). Picos semelhantes foram

encontrados a 12°, 15° e 19° para as amostras UIF e DUIF. Como não há um padrão de cristalinidade (tipo A, B, C e V) atribuído aos amidos de inajá na literatura, não foi possível determinar qual o tipo de amido está presente no inajá.

No entanto, as intensidades de pico nos ângulos de difração de 2θ observados nas amostras de UIF, DUIF e DRIF podem ser características do padrão tipo V, formado pela cristalização da amilose com os lipídios (LIMA et al., 2012). Quanto às amostras desengorduradas, foi observado um ligeiro aumento na cristalinidade relativa, comprovando que o teor de óleo influenciou essa característica. Teixeira; Ávila; Hornung; et al. (2018a) observaram o contrário, onde a cristalinidade relativa diminuiu com a remoção da fração oleosa das farinhas de sapucaia.

A estrutura da superfície das farinhas de inajá e suas contrapartes desengorduradas pode ser vista na **Figura 4.2a**, enquanto os tamanhos médios dos grânulos de amido são mostrados na Tabela 4.4. É possível confirmar a presença e o formato dos grânulos de amido nas farinhas imaturas e maduras, como eles são compostos principalmente de estruturas ovais e outras estruturas côncavas-convexas. Os aglomerados identificados nas amostras podem ser considerados fibras, proteínas e lipídios que retêm os grânulos de amido (BARBI et al., 2018; TEIXEIRA; ÁVILA; HORNUNG; et al., 2018a).

Tabela 4.4. MEV, XRD e propriedades de pasta das farinhas de inajá

Amostra	MEV ¹ (µm)	DRX ² (%)	Propriedade de pasta						
			PV	T	B	FV	S	PT (s)	PT (°C)
UIF	20,38 ^b ± 0,57	27,07 ^b ± 0,60	691,00 ^c ± 0,70	584,10 ^c ± 2,30	105,10 ^c ± 1,40	1279,20 ^c ± 7,70	535,40 ^c ± 4,50	3,40 ^a ± 0,40	65,84 ^a ± 0,05
RIF	18,88 ^c ± 0,14	23,49 ^{d±} 0,60	7320,10 ^a ± 11,30	2416,50 ^a ± 18,80	4989,20 ^a ± 8,40	7852,30 ^a ± 14,40	5436,80 ^{a±} 32,50	2,80 ^b ± 1,30	69,49 ^a ± 0,26
DUIF	39,98 ^a ± 0,40	32,65 ^{a±} 0,75	681,00 ^c ± 2,10	544,30 ^c ± 1,10	103,10 ^c ± 2,30	1104,20 ^c ± 3,50	516,20 ^c ± 7,00	3,30 ^a ± 0,40	65,18 ^a ± 0,11
DRIF	20,70 ^b ± 0,87	25,79 ^c ± 0,65	1449,10 ^b ± 12,10	844,50 ^{b±} 31,20	590,00 ^b ± 1,40	1894,90 ^b ± 2,20	1020,20 ^{b±} 12,70	1,10 ^c ± 0,40	65,68 ^a ± 0,25

¹Diâmetro médio; ² Grau de cristalinidade relativa. Letras diferentes na mesma linha significam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey (p < 0,05). UIF: farinha de inajá não maduro; RIF: farinha de inajá madura; DUIF: farinha de inajá não maduro desengordurada; DRIF: farinha inajá madura desengordurada. PV: viscosidade de pico / MPa.s. T: viscosidade a quente / MPa.s. B: viscosidade de quebra / MPa.s. VF: viscosidade final / MPa.s. S: retrogradação / MPa.s. PT: tempo de pico/ s. PT: temperatura de pasta/ ° C. FONTE: A autora (2020).

Na amostra RIF, uma camada evidente de gordura pode ser vista em torno dos grânulos de amido, confirmando a maior quantidade de lipídios mostrada na **Tabela 4.3**. Para a farinha de inajá imatura (UIF), é possível observar mais grânulos de amido e menor teor lipídico na superfície, corroborando com os resultados apresentados na composição físico-química. Portanto, o processo de desengorduramento não comprometeu a estrutura dos grânulos, como mostrado na **Fig 4.2a**. O tamanho médio dos grânulos variou de 18,88 μm a 39,98 μm . Após a remoção da fração lipídica, os grânulos de amido DUIF tornaram-se mais proeminentes, com um tamanho médio maior em comparação com as outras farinhas, o que provavelmente ocorreu devido à expansão dos grânulos e seus aglomerados. Segundo Uthumporn; Karim; Fazilah (2013), a remoção de lipídios pode aumentar o inchaço do amido. A partir das micrografias, concluímos que as farinhas de inajá imaturas e maduras, bem como suas contrapartes desengorduradas, podem ser consideradas farinhas ricas em amido com potencial de uso industrial.

4.3.2.3. Propriedades de pasta por RVA

Os atributos que tornam as farinhas desejáveis para aplicações industriais são suas propriedades de pasta, e o Rapid Visco Analyzer (RVA) revela as características que podem ser estudadas em relação às mudanças de viscosidade baseadas em princípios reológicos. Vários parâmetros podem ser obtidos a partir dos perfis RVA das farinhas, intrinsecamente relacionadas às condições térmicas aplicadas para obter a gelatinização, fração de volume de sólidos em suspensão e aos constituintes do amido, principalmente a razão amilose/ amilopectina, conteúdo de fósforo e lipídio (GUTIÉRREZ, 2018; HORNING et al., 2017). Esses parâmetros podem ser úteis no entendimento do processamento e armazenamento de farinhas, auxiliando na seleção de suas aplicações tecnológicas. As propriedades de pasta das farinhas de inajá são mostradas na **Tabela 4.4**.

Como pode ser visto na **Tabela 4.4** para a RIF (farinha de inajá madura) e DRIF (farinha de inajá madura desengordurada), essas amostras exibiram os maiores valores para todos os parâmetros de RVA estudados. Foi encontrada uma diminuição de ± 4 °C para a temperatura de pasta do RIF (69,50 °C) após o desengorduramento (DRIF 65,70 °C). Além disso, em relação a outros parâmetros de pasta para as amostras RIF e DRIF, foi observada uma diminuição de $\pm 79\%$ em PV (viscosidade de pico), T (viscosidade a quente), B (viscosidade de quebra), FV (viscosidade final) e S (retrogradação) após o desengorduramento usando etanol. Uma ligeira diminuição para os mesmos parâmetros foi medida entre as farinhas imaturas, UIF e DUIF.

Os lipídios podem estar associados com o amido no estado livre e ligado e também com outros componentes, por ligações iônicas ou ligação de hidrogênio a grupos hidroxila ou na forma de complexos de amilose que residem no núcleo hidrofóbico central da hélice (VASANTHAN; HOOVER, 1992). Diferentes solventes variam em sua capacidade de extrair lipídios firmemente ligados. A interação entre grupos de cadeias de amilopectina durante o desengorduramento pode ter sido o principal fator causador da diminuição dos parâmetros de pasta do RIF (VASANTHAN; HOOVER, 1992). Alterações nas propriedades de pasta do amido também são atribuídas ao tipo de estrutura cristalina do amido, natureza e composição do solvente extrator, e conteúdo de lipídios, amilose e amilopectina.

Estudos prévios também obtiveram resultados mais baixos para os parâmetros analisados, como amido de milho após tratamento com soluções de HCl/ alcoólicas (DE ANDRADE DE SIQUEIRA et al., 2017), amido de sagu modificado com cloreto de benzila em etanol (MISMAN, AZURA, & HAMID, 2015), amido de milho ceroso e amido de batata após tratamento com álcool com ou sem ácido clorídrico (LIN; LII; CHANG, 2005) e amidos de trigo, milho, lentilha, batata e mandioca desengordurados com n-propanol/ água quente (VASANTHAN; HOOVER, 1992).

4.3.2.4. Análise térmica

Conforme mostrado na **Tabela 4.5**, as farinhas de inajá integrais e desengorduradas apresentaram três eventos de perda de massa, relacionados à desidratação, degradação de óleo, carboidratos, proteínas, fibras e oxidação da matéria orgânica, conforme explicado em detalhes por BARBI et al. (2018); HORNUNG; BARBI; et al. (2018a); TEIXEIRA; ÁVILA; HORNUNG; et al. (2018a).

Tabela 4.5. Perda de massa e temperaturas de eventos das curvas TG/ DTG das farinhas de inajá

Amostra	TG		DTG	
	Step	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^{\circ}\text{C}$	$T_p/^{\circ}\text{C}$
UIF	1 st	3,95	29-94	59,80
	Estabilidade	-	94-150	-
	2 nd	17,28	150-226	201,56
	3 rd	75,01	226-568	268,32
RIF	1 st	3,93	28 – 107	66,36
	Estabilidade	-	107 - 154	-
	2 nd	12,96	154 - 221	200,71
	3 rd	56,46	221- 575	260,70
DUIF	1 st	10,21	30 – 80	44,91
	Estabilidade	-	80 –172	-
	2 nd	48,29	172–333	250,42
	3 rd	33,95	333-549	486,13
DRIF	1 st	8,55	32 – 78	43,90
	Estabilidade	-	78 – 161	-
	2 nd	14,49	161 –221	200,52
	3 rd	69,74	221 –573	261,11

Δm perda de massa (%), ΔT faixa de temperatura, T_p evento temperatura máxima. UIF: farinha inajá verde; RIF: farinha de inajá madura; DUIF: farinha inajá verde desengordurada; DRIF: farinha inajá madura desengordurada. FONTE: A autora (2020).

Em relação ao primeiro evento térmico, a amostra DUIF apresentou maior perda de massa (10%) em relação às demais farinhas. As amostras integrais (UIF, RIF) foram numericamente semelhantes na perda de massa, aproximadamente 3,9%. Amostras com baixos valores de umidade são de interesse industrial, pois contribuem para a longa vida útil sem deterioração acelerada dos alimentos (BARBI et al., 2018).

As farinhas tendem a ser ricas em proteínas, lipídios, carboidratos e fibras, por isso é difícil identificar a temperatura exata da perda de massa de cada fração, pois elas ocorrem simultaneamente. O segundo evento é atribuído à decomposição dos componentes acima. O DUIF teve uma perda de massa de 48%, e a mesma perda de massa foi observada no segundo evento térmico para farinha de sapucaia desengordurada (TEIXEIRA; ÁVILA; HORNING; et al., 2018a). A terceira etapa que ocorreu para todas as farinhas de inajá pode estar associada à carbonização e formação de resíduos minerais fixos da matéria orgânica (BARBI et al., 2018).

Observando a faixa de estabilidade, é possível determinar quanto tempo uma amostra permanece com sua estrutura inalterada quando submetida a um processo de aquecimento (BARBI et al., 2019). As farinhas desengorduradas apresentaram maior estabilidade do que as farinhas integrais. Esse comportamento das farinhas integrais pode estar relacionado à quantidade de óleo presente em sua composição (**Tabela 4.3**). A amostra RIF, rica em fração oleosa, apresentou um período de estabilidade mais curto que o UIF, o que pode ser devido ao fato do óleo a altas temperaturas tender a oxidar, contribuindo para a decomposição da amostra.

Uma das principais vantagens do desengorduramento de farinhas ricas em óleo é a redução da oxidação lipídica, bem como a possibilidade de produzir produtos de baixa caloria, que é um mercado em crescimento. Portanto, os produtos desengordurados (DUIF, DRIF) obtidos após a extração de óleo podem encontrar aplicações em várias indústrias.

4.3.2.5. Conteúdo de carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante

A farinha de polpa madura de inajá e o óleo extraído são uma fonte importante de carotenoides (BARBI et al., 2019; DOS SANTOS et al., 2015) mas essas informações estão ausentes na literatura a respeito de polpa imatura e as contrapartes desengorduradas. Como esperado, foi encontrado um maior teor de carotenoides totais (CT) na polpa madura (310,13 mg/ 100g), bem como em seu produto desengordurado (125,11 mg/ 100g); no entanto, uma

menor quantidade de CT na polpa imatura (158,59 mg/ 100g) e suas farinhas desengorduradas (42,29 mg/ 100g) foram obtidas (**Tabela 4.1**). As farinhas de inajá integrais e desengorduradas apresentaram níveis mais elevados de CT em comparação com as farinhas de buriti (0,15 - 1,18 mg/ 100g) (RESENDE; FRANCA, 2019a) e farinhas de pequi (2,11 - 3,49 mg /100g) (LEÃO et al., 2017).

De acordo com a literatura, os carotenoides são pigmentos naturais e também são considerados compostos bioativos que constituem vários frutos. A ingestão de carotenoides na dieta humana está associada à prevenção de doenças, como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, obesidade e outras (BARBI et al., 2019; LEÃO et al., 2017). Foi encontrada uma diferença significativa ($p < 0,05$) no conteúdo fenólico total (TPC) livre e ligado entre as amostras. A farinha de inajá imatura apresentou maior quantidade de fenólicos livres, cerca de 80% maior para a fração livre no TPC que a amostra do RIF. Sugere-se que os frutos não maduros tenham um maior teor de compostos fenólicos como defesa contra invasores externos e, à medida que o amadurecimento ocorre, é observada uma diminuição no TPC (BARBI et al., 2018).

Os níveis de fenólicos ligados foram superiores aos dos fenólicos livres em todas as farinhas de inajá. O mesmo comportamento foi observado no amido de açafrão (HORNUNG; MASISI; et al., 2018b) e no arroz integral e farelo (PANG et al., 2018). Os compostos fenólicos existem na forma livre e ligada e podem estar presentes em diferentes quantidades nos tecidos das plantas. Os compostos fenólicos ligados contribuem para a resistência mecânica das paredes celulares; esse comportamento é devido a ligações covalentes feitas com componentes estruturais, como celulose, hemicelulose, lignina, proteínas estruturais e carboidratos. Além disso, os fenólicos ligados agem como reguladores do crescimento e morfogênese das plantas e resposta celular ao estresse e patógenos (CHEN, ZHIJIE et al., 2016; HORNUNG; MASISI; et al., 2018b).

Este é o primeiro estudo a avaliar a atividade antioxidante das frações fenólicas livres e ligadas da farinha de inajá pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP. A farinha imatura apresentou maior potencial antioxidante que a farinha madura, o que foi consistente com seus valores de TPC (**Tabela 4.1**). No presente estudo, o DPPH apresentou os maiores valores, seguidos pelo ABTS e FRAP para o extrato fenólico livre de todas as farinhas. Para as frações fenólicas ligadas, o FRAP apresentou os maiores valores, seguidos pelo ABTS e DPPH. Cada ensaio antioxidante possui um mecanismo de reação. DPPH e ABTS são testes baseados em transferência de elétrons e átomos de hidrogênio, enquanto o ensaio FRAP é baseado em uma reação de transferência de elétrons, a forma Fe^{3+} oxidada incolor de ferro é convertida em uma forma reduzida de azul de Fe^{2+} tri-piridil triazina (TPTZ) de cor azul (BARBI et al., 2018; CHEN et al., 2016).

A capacidade antioxidante da fração ligada foi superior à das frações livres em todas as farinhas de inajá. Hornung; Masisi; et al. (2018b), também relataram que os fenólicos ligados foram os principais contribuintes para a atividade antioxidante total do amido de açafrão da Amazônia. Devido ao efeito dos fitoquímicos ligados às plantas, é essencial estudar e incluir a quantificação e avaliação da atividade antioxidante desses compostos. Como pode ser visto, o desengorduramento com etanol não destruiu a capacidade antioxidante das farinhas resultantes do processo.

4.3.2.6. Compostos bioativos analisados por HPLC-DAD

Seis compostos bioativos, incluindo ácido gálico, ácido p-hidroxibenzóico, ácido seringico, ácido ferúlico, ácido m-comarico e ácido p-comarico, foram identificados e quantificados em extratos fenólicos livres e ligados pela primeira vez nas farinhas de inajá. Os perfis fenólicos são apresentados na **Tabela 4.2**. A farinha imatura apresentou a maior quantidade de compostos bioativos consistentes com os valores de TPC. Além disso, houve

uma redução em todos os compostos presentes na farinha de inajá imatura (UIF) quando a farinha de inajá madura (RIF) foi obtida. Essa redução era esperada devido aos diferentes estádios de maturação (CORDOVA; WATSON, 2014).

O ácido gálico na forma ligada foi identificado em todas as farinhas de inajá, enquanto na forma livre não foi detectada, apenas nas farinhas desengorduradas. Isso pode ser devido à recuperação do ácido gálico na fração oleosa durante a extração da farinha madura. O composto ácido 4-hidroxibenzóico foi detectado nas formas livre e ligada. O teor de ácido 4-hidroxibenzóico ligado foi maior do que na fração livre, o que era inconsistente com a literatura que afirma que os ácidos hidroxibenzóicos geralmente estão presentes na forma ligada (MURKOVIC, 2003).

O ácido siríngico foi menos predominante na fração livre e não foi detectado nas amostras de RIF e DRIF. Após a remoção do óleo da amostra de UIF, observou-se um aumento de aproximadamente 82% do ácido siríngico na forma livre. O ácido ferúlico estava presente principalmente na forma ligada, particularmente nas amostras desengorduradas. Segundo Murkovic (2003), o ácido ferúlico é um derivado dos ácidos hidroxicinâmicos que estão amplamente presentes na fração ligada e dificilmente encontrados na fração livre. O composto m-cumarico mostrou presente apenas na forma livre e diferiu significativamente ($p < 0,05$) entre as farinhas. O ácido p-cumarico livre apresentou maior teor em farinha imatura desengordurada, DUIF (130,91 $\mu\text{g/g}$), enquanto a fração ligada diminuiu ligeiramente após a remoção do óleo.

Os compostos bioativos presentes na farinha de inajá integral, imatura e madura, bem como nas farinhas desengorduradas, são interessantes porque possuem propriedades anti-inflamatórias e atuam na prevenção de doenças crônicas, antienvelhecimento, fotoprotetor, entre outros benefícios (MURKOVIC, 2003; NACZK; SHAHIDI, 2004). Portanto, os perfis fenólicos de farinhas imaturas e maduras, bem como suas farinhas desengorduradas servem como justificativa para produção e aplicação em vários segmentos industriais, desde a

incorporação em formulações de pães até prolongamento da vida útil, e também em produtos dermocosméticos.

4.4. CONCLUSÃO

Foram observadas diferenças na composição química, estabilidade térmica e capacidade antioxidante dos óleos de inajá. A análise térmica mostrou que os óleos de inajá são termicamente estáveis até 253 °C. Além disso, os extratos de óleo apresentaram níveis consideráveis de compostos fenólicos totais e propriedades antioxidantes. O óleo e as farinhas da polpa de inajá podem ser considerados uma boa fonte de carotenoides e conteúdo fenólico com alta capacidade antioxidante. O processo de desengorduramento com etanol não afetou significativamente a morfologia dos grânulos de amido nas farinhas e outras características físico-químicas, causando um impacto mínimo no perfil de viscosidade das amostras de inajá. A remoção da fração oleosa diminuiu o pico de viscosidade das farinhas integrais. Portanto, esses resultados confirmam o potencial das farinhas integrais e desengorduradas, imaturas e maduras produzidas a partir de polpas de palmeira de inajá como fontes relevantes de amido e compostos fenólicos. O possível desenvolvimento dessas farinhas a partir de uma fonte não convencional pode servir como um incentivo para cultivar e explorar ainda mais um fruto da palmeira subutilizado e facilmente disponível e de baixo custo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As farinhas integrais do fruto de inajá nos estádios de maturação não maduro e maduro, e seus respectivos óleos foram aqui estudados. Foram observados que independente do processo de extração, todos os óleos mostraram alta capacidade antioxidante, perfil valioso de ácidos graxos, em destaque o ácido oleico. A tecnologia de fluidos comprimidos usando propano subcrítico, dióxido de carbono e etanol pressurizado podem ser aplicados na extração do óleo de inajá, uma vez que, os rendimentos de extração foram tão satisfatórios quanto aos rendimentos obtidos pela extração clássica com solvente orgânico.

As farinhas integrais e as desengorduras resultantes dos processos de extração foram avaliadas e os resultados indicaram que os processos de retirada da fração oleosa, de um modo geral, pouco afetaram a morfologia dos grânulos, e as características físico-químicas. Além disso, todas as farinhas de inajá apresentaram compostos bioativos valiosos, os quais reforçam a utilização desta nova fonte de compostos nutricionais que podem vir a ser empregados em diferentes setores industriais.

Em termos gerais, as farinhas e os óleos de inajá apresentam uma composição rica em compostos nutricionais de interesse, destacando os carotenoides, ácidos fenólicos, ácidos graxos. Vale mencionar também, que as farinhas de inajá pode ser considerada fonte não convencional de amido. Diante aos resultados obtidos ao longo dos trabalhos, pode-se concluir que o óleo e as farinhas do fruto da palmeita de inajá apresenta potencial nutricional e alta aplicabilidade em indústrias alimentícias, fármacos e cosméticos.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar testes *in vivo* da atividade antioxidante dos óleos e farinhas;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos e farinhas de inajá;
- Estudar a farinha de inajá como material encapsulante;
- Promover o microencapsulamento dos óleos, a fim de verificar sua estabilidade biológica neste contexto;
- Realizar um estudo econômico a cerca da viabilidade financeira dos métodos de extração.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and health benefits of some palm species traditionally used in Africa and the Americas – A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 224, p. 202–229, 2018.
- ANDRADE, M. M. P. et al. Effects of heat-moisture treatment on organic cassava starch: Thermal, rheological and structural study. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2115–2122, 2013.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17th ed. ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000.
- AOCS, **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. 5th ed ed. Champaign, Illinois: AOCS Press, 1997.
- APPEL, L. J. et al. Effects of Protein, Monounsaturated Fat, and Carbohydrate Intake on Blood Pressure and Serum Lipids: results of the OmniHeart randomized trial. **Journal of the American Medical Association**, v. 294, n. 19, p. 2455–2464, 2005.
- ARAÚJO, M.G.P.; LEITÃO, A.M.; MENDONÇA, M.S. Morphology of the fruit and the seed of Inajá (*Attalea maripa* (Aubl.) Mart.) - Palmae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 2, p. 31–38, 30 dez. 2000.
- AYALA-ZAVALA, J. F. et al. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1866–1874, 2011.
- BARBI, R. C. T. et al. Eriobotrya japonica seed as a new source of starch: Assessment of phenolic compounds, antioxidant activity, thermal, rheological and morphological properties. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 646–658, 2018.
- BARBI, R. C. T. et al. Subcritical propane extraction of high-quality inajá (*Maximiliana maripa*) pulp oil. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 153, 2019.
- BARBI, R. C. T. et al. Fatty acid profile and lipid quality of *Maximiliana maripa* oil obtained by supercritical CO₂ and pressurized ethanol. **The Journal of Supercritical Fluids**, 104979, 2020a.
- BARBI, R. C. T. et al. Ripe and unripe inajá (*Maximiliana maripa*) fruit: A new high source of added value bioactive compounds. **Food Chemistry**, v.33, 127333, 2020b.
- BARROS, P. A.V. et al. Nutritional quality and oxidative stability of butter obtained from cows fed sugar-cane supplemented with sunflower oil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 65, n. 5, p. 1545–1553, 2013.
- BATISTA, C. R. et al. Supercritical CO₂ extraction of açai (*Euterpe oleracea*) berry oil: Global

yield, fatty acids, allelopathic activities, and determination of phenolic and anthocyanins total compounds in the residual pulp. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 107, p. 364–369, jan. 2016.

BENZIE, Iris F.F.; STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, jul. 1996.

BEZERRA, Valeria Saldanha. O Inajá (*Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude) como fonte alimentar e oleaginosa. **EMBRAPA (Comunicado Técnico)**, v. 129, p. 1–6, 2011.

BHAT, R.; YAHYA, N. Evaluating belinjaw (*Gnetum gnemon* L.) seed flour quality as a base for development of novel food products and food formulations. **Food Chemistry**, v. 156, p. 42–49, 2014.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRAZIL. Resolution RDC ANVISA no. 263 of 22 September 2005. Technical Regulation for Cereal products, starches, flours and bran. **Official Daily Journal of Union**, 2005.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: Technology and application to food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 1–2, p. 21–33, 2005.

CAMEL, V. Recent extraction techniques for solid matrices - Supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: Their potential and pitfalls. **Analyst**, v. 126, n. 7, p. 1182–1193, 2001.

CAPORASO, N. et al. Nutritional quality assessment of extra virgin olive oil from the Italian retail market: Do natural antioxidants satisfy EFSA health claims? **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 40, p. 154–162, 2015.

CAPPA, M. et al. A mixture of oleic , erucic and conjugated linoleic acids modulates cerebrospinal fluid inflammatory markers and improve somatosensorial evoked potential in X-linked adrenoleukodystrophy female carriers. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 35, p. 899–907, 2012.

CASTRO, M. D. L.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of chromatography A**, v. 1217, n.16, p. 2386-2389, 2010.

CAVALCANTE, P.B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 5th ed. ed. Belém: CEJUP: CNPq: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1991.

CHEN, L; LIU, Y. L; DENG, J. L. Removal of phthalic acid esters from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) pulp oil by steam distillation and molecular distillation. **Food**

Chemistry, v. 294, p. 572–577, out. 2019.

CHEN, Z. et al. Changes of phenolic profiles and antioxidant activity in canaryseed (*Phalaris canariensis* L.) during germination. **Food Chemistry**, v. 194, p. 608–618, mar. 2016.

CONTE, R. et al. Pressurized liquid extraction and chemical characterization of safflower oil: A comparison between methods. **Food Chemistry**, v. 213, p. 425–430, 2016.

CORDOVA, F. M; WATSON, R. R. Food and supplement polyphenol action in cancer recurrence. **Polyphenols Hum. Heal. Dis.** [S.l.]: Elsevier Inc., 2014. p. 191–195.

CRUZ, P. N. et al. Antioxidant activity and fatty acid profile of yacon leaves extracts obtained by supercritical CO₂ + ethanol solvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 146, p. 55–64, 2019.

CUCO, R. P. et al. Oil extraction from structured bed of pumpkin seeds and peel using compressed propane as solvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 152, out. 2019.

CUCO, R. P.; CARDOZO-FILHO, L.; SILVA, C. Simultaneous extraction of seed oil and active compounds from peel of pumpkin (*Cucurbita maxima*) using pressurized carbon dioxide as solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 143, n. August 2018, p. 8–15, 2019.

CUNHA, V. M. B. et al. Bacaba-de-leque (*Oenocarpus distichus* Mart.) oil extraction using supercritical CO₂ and bioactive compounds determination in the residual pulp. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 144, p. 81–90, 2018.

CURI, P. N. et al. Optimization of native Brazilian fruit jelly through desirability-based mixture design. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 2, p. 388–395, 2019.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Fennema's Food Chemistry**. 5th ed. ed. [S.l.]: CRC Press, 2017.

DE ANDRADE DE SIQUEIRA, G. L. et al. Impact of treatment with HCL/alcoholic in the modification of corn starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 129, n. 3, p. 1705–1713, set. 2017.

DE CÁSSIA RODRIGUES BATISTA, C. et al. Supercritical CO₂ extraction of açaí (*Euterpe oleracea*) berry oil: Global yield, fatty acids, allelopathic activities, and determination of phenolic and anthocyanins total compounds in the residual pulp. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 107, p. 364–369, jan. 2016.

DE MELLO, B. T. F. et al. Methyl acetate as solvent in pressurized liquid extraction of crambe seed oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 145, p. 66–73, 2019.

DE OLIVEIRA, N.A. et al. Composition and physical properties of babassu seed (*Orbignya phalerata*) oil obtained by supercritical CO₂ extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 150, p. 21–29, ago. 2019.

- DE SOUZA, A. R. C. et al. Assessment of composition and biological activity of *Arctium lappa* leaves extracts obtained with pressurized liquid and supercritical CO₂ extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 152, p. 104573, out. 2019.
- DE SOUZA, A. R. C. et al. Extraction of *Arctium Lappa* leaves using supercritical CO₂ + ethanol: Kinetics, chemical composition, and bioactivity assessments. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 140, p. 137–146, 2018.
- DINIZ, Z. N. et al. *Sterculia striata* seed kernel oil : characterization and thermal stability. **Grasas Y Aceites**, v. 59, n. 2, p. 160–165, 2008.
- DOS SANTOS, M. et al. Amazonian Native Palm Fruits as Sources of Antioxidant Bioactive Compounds. **Antioxidants**, v. 4, n. 3, p. 591–602, 2015.
- FERNÁNDEZ, I. M. et al. Oil in Inajá Pulp (*Maximiliana maripa*): Fatty Acid Profile and Anti-acetylcholinesterase Activity. **The Electronic Journal of Chemistry**, v. 8, n. 2, p. 2–5, 2016.
- FERREIRA, D. **Diversidade e potencial econômico de Palmeiras da Amazônia Brasileira**. A gazeta do acre, 2016. Disponível em: <<https://agazetadoacre.com/diversidade-e-potencial-economico-de-palmeiras-da-amazonia-brasileira/>> Acesso em: 20/08/2018.
- FETZER, D. L. et al. Extraction of baru (*Dipteryx alata vogel*) seed oil using compressed solvents technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 137, p. 23–33, jul. 2018.
- FREITAS, L. S. et al. Effect of experimental parameters in the pressurized liquid extraction of brazilian grape seed oil. **Separation and Purification Technology**, v. 116, p. 313–318, 2013.
- FREITAS, L. S. et al. Extraction of Grape Seed Oil Using Compressed Carbon Dioxide and Propane : Extraction Yields and Characterization of Free Glycerol Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 2558–2564, 2008.
- GALÁN-ARRIERO, I. et al. The role of Omega-3 and Omega-9 fatty acids for the treatment of neuropathic pain after neurotrauma. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1859, n. 9, p. 1629–1635, set. 2017.
- GALANAKIS, C.M. M et al. A Knowledge Base for The Recovery of Natural Phenols with Different Solvents. **International Journal of Food Properties**, v. 16, n. 2, p. 382–396, 2011.
- GAO, F.; BIRCH, J. Oxidative stability, thermal decomposition, and oxidation onset prediction of carrot, flax, hemp, and canola seed oils in relation to oil composition and positional distribution of fatty acids. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, n. 7, p. 1042–1052, 2016.
- GHANBARI, R. et al. Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L.)— A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 3291–3340, 2012.

- GOMIDE, R. Operações com sistemas sólidos granulares. **Operações unitárias**. 1 ed ed. São Paulo: Edição do Autor, 1983. p. 27–30.
- GUEDES, A. M. M. et al. Length-scale Specific Crystalline Structural Changes Induced by Molecular Randomization of Pequi Oil. **Journal of Oleo Science**, v. 66, n. 5, p. 469–478, 2017.
- GULL, J. et al. Variation in Antioxidant Attributes at Three Ripening Stages of Guava (*Psidium guajava* L.) Fruit from Different Geographical Regions of Pakistan. **Molecules**, v. 17, p. 3165–3180, 2012.
- GUTIÉRREZ, T. J. Plantain flours as potential raw materials for the development of gluten-free functional foods. **Carbohydrate Polymers**, v. 202, p. 265–279, dez. 2018.
- HAMDAN, S. et al. Extraction of cardamom oil by supercritical carbon dioxide and sub-critical propane. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 44, n. 1, p. 25–30, 2008.
- HORNUNG, P. S.; BARBI, R. C. T. et al. Brazilian Amazon white yam (*Dioscorea* sp.) starch: Impact on functional properties due to chemical and physical modifications processes. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 134, n. 3, p. 2075–2088, 2018a.
- HORNUNG, P. S. et al. Enhancement of the functional properties of Dioscoreaceas native starches: Mixture as a green modification process. **Thermochimica Acta**, v. 649, p. 31–40, 2017.
- HORNUNG, P. S.; MASISI, K. et al. Natural bioactive starch film from Amazon turmeric (*Curcuma longa* L.). **Polymer Bulletin**, v. 75, n. 10, p. 4735–4752, 2018b.
- HUNTY, A. The COMA report on nutritional aspects of cardiovascular disease: the scientific evidence. **British Food Journal**, v. 97, n. 9, p. 30–32, 1995.
- ILLÉS, V. et al. Extraction of coriander seed oil by CO₂ and propane at super- and subcritical conditions. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 17, n. 2, p. 177–186, 2000.
- IONASHIRO, M. **Giolito - Fundamentos da Termogravimetria Análise Térmica Diferencial Calorimetria Exploratória Diferencial**. [S.l: s.n.], 2004.
- JESUS, A. A. et al. Extraction of palm oil using propane , ethanol and its mixtures as compressed solvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 81, p. 245–253, 2013.
- LEÃO, D. P. et al. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products. **Food Chemistry**, v. 225, p. 146–153, 2017.
- LI, D.; ZHU, F. Physicochemical, functional and nutritional properties of kiwifruit flour. **Food Hydrocolloids**, v. 92, p. 250–258, 2019.
- LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and characterisation by UV-VIS Spectroscopy. **Curr. Protoc. Food Anal. Chem**, p. 1–8, 2001.

- LIMA, B. N. B. et al. Characterization of Commercial Edible Starch Flours. **Polímeros**, v. 22, n. 5, p. 486–490, 2012.
- MAIA, E.L., NUNES, M.L., FREITAS, S.T.; FERNANDES, A.C.; OGAWA, M.; de OLIVEIRA, M.E.B. Resíduos do beneficiamento do camarão cultivado: obtenção de pigmentos carotenóides, **Ciência e Tecnol. Aliment**, v. 27, p. 333–337, 2007
- LIN, J.H; LII, C.; CHANG, Yung-Ho. Change of granular and molecular structures of waxy maize and potato starches after treated in alcohols with or without hydrochloric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, n. 4, p. 507–515, 2005.
- LOPES, R. et al. **Palmeiras nativas do Brasil**. EMBRAPA, 2015.
- LUQUE DE CASTRO, M. D.; GARCÍA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, v. 369, n. 1–2, p. 1–10, 1998.
- LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383–2389, 2010.
- MELO-CAVALCANTE, A. A. de C. et al. Biomedicine & Pharmacotherapy Retinol palmitate and ascorbic acid: Role in oncological prevention and therapy. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, p. 1394–1405, 2019.
- MOURTHÉ, M.H.F. et al. Milk fatty acid profile of Holstein x Gyr cows grazing on marandugrass supplemented with increasing levels of roasted soybeans. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 4, p. 1150–1158, ago. 2015.
- MURKOVIC, M. Phenolic compounds. In: LTD., Elsevier science (Org.). **Encycl. Food Sci. Nutr.** 2 ed. Austria: Academic Press, p. 4507–4514, 2003.
- MUSTAFA, A-; TURNER, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, n. 1, p. 8–18, 2011.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1–2, p. 95–111, 2004.
- NASCIMENTO, A. D. P. et al. Extraction of *Acrocomia intumescens* Drude oil with supercritical carbon dioxide: Process modeling and comparison with organic solvent extractions. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 1–7, 2016.
- NDIAYE, P. M. et al. Phase behavior of olive and soybean oils in compressed propane and n-butane. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n. 3, p. 405–415, 2006.
- NETO, V. Q. et al. Brazil nut (*Bertholletia Excelsa* HBK) seed kernel oil: Characterization and thermal stability. **Revista da Biologia e Farmácia**, v. 3, n. 1, p. 33–42, 2009.
- PANG, Y. et al. Bound phenolic compounds and antioxidant properties of whole grain and bran

- of white, red and black rice. **Food Chemistry**, v. 240, p. 212–221, fev. 2018.
- PAZNOCHT, Luboš et al. Carotenoid changes of colored-grain wheat flours during bun-making. **Food Chemistry**, v. 277, p. 725–734, 2019.
- PEDRO, A. C. et al. Bioactive compounds of organic goji berry (*Lycium barbarum* L.) prevents oxidative deterioration of soybean oil. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 90–97, 2018.
- PEREIRA, M. G. et al. Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 338–348, 2017.
- PINTO, R.H.H. et al. Extraction of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) oil with supercritical CO₂: Global yield isotherms, fatty acid composition, functional quality, oxidative stability, spectroscopic profile and antioxidant activity. **Grasas Y Aceites**, v. 69, n. 2, p. 1–8, 2018.
- POONTAWEE, W.; NATAKANKITKUL, S.; WONGMEKIAT, Orawan. Enhancing Phenolic Contents and Antioxidant Potentials of Antidesma thwaitesianum by Supercritical Carbon Dioxide Extraction. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2015, p. 1–7, 2015.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.
- REICHARDT, C. **Solvents and Solvents Effects in Organic Chemistry**. 3 ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2003.
- RESENDE, L. M.; FRANCA, A. S. Flours Based on Exotic Fruits and Their Processing Residues—Features and Potential Applications to Health and Disease Prevention. In: WATSON, Victor R. Preedy and Ronald Ross (Org.). **Flour Breads their Fortif. Heal. Dis. Prev.** 2 ed. [S.l.]: Elsevier, p. 387–401, 2019.
- RESENDE, L. M.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. **Food Chemistry**, v. 270, p. 53–60, 2019.
- RODRIGUES, A. M. da C.; DARNET, S.; SILVA, L. H. M. da. Fatty acid profiles and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*), patawa (*Oenocarpus bataua*), tucuma (*Astrocaryum vulgare*), mari (*Poraqueiba paraensis*) and inaja (*Maximiliana maripa*) fruits. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 10, p. 2000–2004, 2010.
- RODRIGUEZ-CONCEPCION, M. et al. A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. **Progress in Lipid Research**, v. 70, p. 62–93, abr. 2018.
- RODRIGUEZ, J. M. F. et al. Kinetics, composition and antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa*) root extracts obtained with supercritical CO₂ and co-solvent. **Journal of**

Supercritical Fluids, v. 135, n. November 2017, p. 25–33, 2018. .

RUDKE, A. R. et al. Optimization of green PLE method applied for the recovery of antioxidant compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L.) shell. **Food Chemistry**, v. 298, p. 125061, 2019.

SAHENA, F. et al. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction - A review. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 2, p. 240–253, 2009.

SAINI, R. K.; KEUM, Y. S. Tocopherols and tocotrienols in plants and their products: A review on methods of extraction, chromatographic separation, and detection. **Food Research International**, v. 82, p. 59–70, 2016.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype , feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs II . Fatty acid composition of meat. **Livestock production science**, v. 77, p. 187–194, 2002.

SANTOS, M. de F. G. et al. Quality characteristics of fruits and oils of palm native to the Brazilian Amazon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, p. 1–6, 2017.

SANTOS, Orquidea Vasconcelos dos et al. Chemical, chromatographic-functional, thermogravimetric-differential and spectroscopic parameters of the sapucaia oil obtained by different extraction methods. **Industrial Crops & Products**, v. 132, p. 487–496, 2019.

SANTOS, J.C.O. et al. Thermal Stability and Kinetic Study on Thermal Decomposition of Commercial Edible Oils by Thermogravimetry. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 4, p. 1393–1398, 2002.

SANTOS, K. A. et al. Extraction of crambe seed oil using subcritical propane : Kinetics , characterization and modeling. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 54–61, 2015.

SANTOS, M. F.G.; ALVES, R. E.; ROCA, M. Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon. **Grasas y Aceites**, v. 66, n. 3, 2015.

SANTOS, M.F.G; MARMESAT, S; BRITO, E.S; DOBARGANES, M.C. Major components in oils obtained from Amazonian palm fruits. **Grasas y Aceites**, v. 64, n.3, p.328-334, 2013.

SEKHON, J. K; MANESS, N. O; JONES, C. L. Effect of compressed propane extraction on storage stability of dried cilantro (*Coriandrum sativum* L.). **Journal of Food Engineering**, v. 178, p. 159–169, 2016.

SHANLEY, P.; MEDINA, G. **Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica**. Belém: CIFOR, 2005.

SHARMA, R. et al. Octacosanol and policosanol prevent high-fat diet-induced obesity and metabolic disorders by activating brown adipose tissue and improving liver metabolism. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 5169, 2019.

SHI, Y. et al. Preparation and characterization of foxtail millet bran oil using subcritical propane

- and supercritical carbon dioxide extraction. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 5, p. 3099–104, 2014.
- SILVA, C. M. et al. Compressed n-propane extraction of lipids and bioactive compounds from Perilla (*Perilla frutescens*). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 102, p. 1–8, 2015.
- SILVA, M. P. et al. Supercritical CO₂ extraction of lyophilized Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp oil from three municipalities in the state of Pará, Brazil. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 31, p. 226–234, 2019.
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 6 ed. Porto Alegre e Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/ Editora da UFSC, 1999.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.
- SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂-I. Modelling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**, v. 49, p. 409–414, 1994.
- SPARKS, D.; HERNANDEZ, R.; ZAPPI, M.; BLACKWELL, D.; FLEMING, T. Extraction of Rice Bran Oil Using Supercritical Carbon Dioxide and Propane, **J. Am. Oil Chem. Soc.** v. 83, p. 885–891, 2006.
- STALIKAS, Constantine D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**, v. 30, n. 18, p. 3268–3295, 2007.
- SUN, Tianhu et al. Carotenoid Metabolism in Plants: The Role of Plastids. **Molecular Plant**, v. 11, n. 1, p. 58–74, 2018.
- TEIXEIRA, G. L.; ÁVILA, S.; SILVEIRA, J. L.M.; et al. Chemical, thermal and rheological properties and stability of sapucaia (*Lecythis pisonis*) nut oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 131, n. 3, p. 2105–2121, 2017.
- TEIXEIRA, G. L.; GHAZANI, S. M.; et al. Assessment of subcritical propane, supercritical CO₂ and Soxhlet extraction of oil from sapucaia (*Lecythis pisonis*) nuts. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 133, p. 122–132, 2018a.
- TEIXEIRA, G. L.; ÁVILA, S.; HORNUNG, P. S.; et al. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess.) flour as a new industrial ingredient: Physicochemical, thermal, and functional properties. **Food Research International**, v. 109, p. 572–582, 2018b.
- TEMELLI, Feral. Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, n. 3, p. 583–590, 2009.
- TRENTINI, C. P.; SANTOS, K. A. et al. Oil extraction from macauba pulp using compressed propane. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 126, p. 72–78, 2017.

- TRENTINI, C. P.; SILVA, S. B. et al. Pressurized Liquid Extraction of Macauba Pulp Oil. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 95, p. 1579–1584, 2017.
- TREVISANI JUCHEN, P. et al. Extraction of parboiled rice bran oil with supercritical CO₂ and ethanol as co-solvent: Kinetics and characterization. **Industrial Crops and Products**, v. 139, 2019.
- ULBRICHT, T. L. V.; SOUTHGATE, D. A. T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **The Lancet**, v. 338, p. 985–992, 1991.
- UTHUMPORN, U.; KARIM, A. A.; FAZILAH, A. Defatting improves the hydrolysis of granular starch using a mixture of fungal amylolytic enzymes. **Industrial Crops and Products**, v. 43, n. 1, p. 441–449, 2013.
- VALFRÉ, F.; CAPRINO, F.; TURCHINI, G. M. The Health Benefit of Seafood. **The Helth Benefit of Seafood**, v. 27, p. 507–512, 2003.
- VASANTHAN, T.; HOOVER, R. Effect of physical modification on starch structure and physicochemical properties. **Food Chemistry**, v. 45, p. 337–347, 1992.
- WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 6, p. 300–312, 2006.
- WANI, I. A. et al. Effect of roasting on physicochemical , functional and antioxidant properties of arrowhead (*Sagittaria sagittifolia* L.) flour. **Food Chemistry**, v. 197, p. 345–352, 2016.
- WILLIAMS, C. M. Dietary fatty acids and human health. **Annales de Zootechnie**, v. 49, p. 165–180, 2000.
- WILLIAMS, C. M. C. M. Dietary fatty acids and human health. **Annales de Zootechnie**, v. 49, n. 3, p. 165–180, 2003.
- YANG, S T; ZHANG, K. Fumaric Acid. **Ref. Modul. Life Sci.** [S.l.]: Elsevier Ltd., p. 1–19, 2017.
- YOUNG, A.; BRITTON, G.. **Carotenoids in photosynthesis**. 1. ed. [S.l.]: Chapman and Hall, 1993.
- ZANQUI, A. B. et al. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil composition varies with changes in temperature and pressure in subcritical extraction with n-propane. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 64–70, 2016.

ANEXO I

J. of Supercritical Fluids 153 (2019) 104576



Contents lists available at ScienceDirect

The Journal of Supercritical Fluids

journal homepage: www.elsevier.com/locate/supflu

Subcritical propane extraction of high-quality inajá (*Maximiliana maripa*) pulp oil

Rafaela Cristina Turola Barbi^a, Ariádine Reder Custódio de Souza^a, Fabiane Hamerski^a, Gerson Lopes Teixeira^b, Marcos Lúcio Corazza^a, Rosemary Hoffmann Ribani^{a,*}

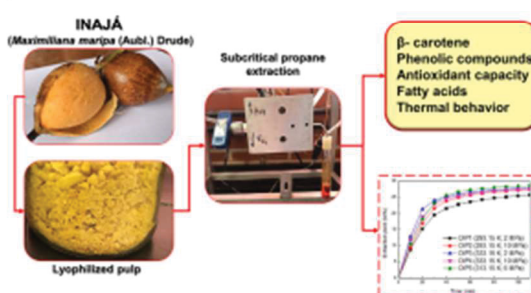
^a Graduate Program in Food Engineering, Department of Chemical Engineering, Federal University of Paraná, 81531-990, Curitiba, PR, Brazil
^b Department of Food Science and Technology, Federal University of Santa Catarina, 88034-001, Florianópolis, SC, Brazil



HIGHLIGHTS

- High yield of inajá pulp oil was successfully obtained using subcritical propane.
- Oil samples showed high antioxidant activity, total phenolic compounds, and β -carotene.
- Subcritical propane provided oil samples with high thermal stability.
- Oleic acid, carotene, and ascorbic acid were predominant in inajá pulp oils.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 April 2019

Received in revised form 15 July 2019

Accepted 29 July 2019

Available online 2 August 2019

Keywords:

Bioactive compounds

Oil yield

Inajá oil

High thermal stability

Oleic acid

ABSTRACT

The *Maximiliana maripa* is an important palm tree from Brazilian vegetation whose fruits present oily pulp and kernel. This study aimed at obtaining inajá pulp oil (IPO) by subcritical propane extraction and compare with the conventional Soxhlet extraction. The subcritical propane extractions were performed at different conditions to investigate the effects of temperature and pressure on the yield, chemical composition, and bioactive compounds of the oil. The subcritical propane provided fast extractions and high yields, reaching up to 28.66 wt% at 313 K and 6 MPa. The IPO presented high quality with a rich composition of oleic and palmitic acids, phenolic compounds, β -Carotene, antioxidant activity, and excellent thermal stability, showing great potential for use in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries.

© 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Brazilian biomes have a significant number of valuable native palms, and the research involving different vegetable species provided results that help to understand their characteristics better,

thus contributing to the preservation of its biodiversity. Amazonian fruits such as bacaba (*Oenocarpus bacaba*), pupunha (*Bactris gasipaes*), and tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) have attracted industry attention due to the nutritional and bioactive properties of the oils extracted from the seeds and pulps [1]. The *Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude palms, from Arecaceae family, are native trees found in the Brazilian Amazon such as other species (e.g., *Euterpe oleracea* and *Orbignya speciosa*), and is one of the most common sources of seeds utilized by Amazonian communities [2].

* Corresponding author.

E-mail address: ribani@ufpr.br (R. Hoffmann Ribani).<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104576>

0896-8446/© 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

ANEXO II

J. of Supercritical Fluids 165 (2020) 104979



Contents lists available at ScienceDirect

The Journal of Supercritical Fluids

journal homepage: www.elsevier.com/locate/supfluFatty acid profile and lipid quality of *Maximiliana maripa* oil obtained by supercritical CO₂ and pressurized ethanol

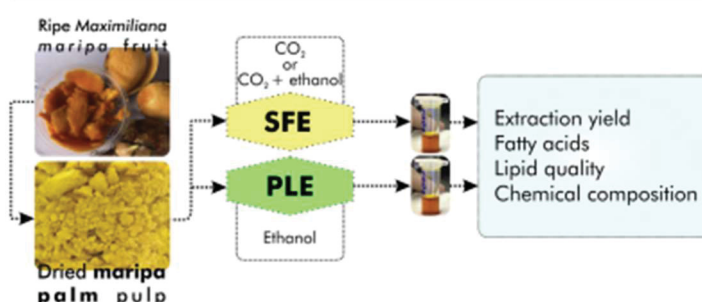
Rafaela Cristina Turola Barbi^{a,*}, Ariádine Reder Custódio de Souza^b,
Anely Maciel de Melo^a, Gerson Lopes Teixeira^c, Marcos Lúcio Corazza^a,
Rosemary Hoffmann Ribani^{a,*}

^a Graduate Program in Food Engineering, Department of Chemical Engineering, Federal University of Paraná, 81531-990, Curitiba, PR, Brazil^b Department of Food Engineering, State University of Midwest, CEP 85040-080, Guarapuava, PR, Brazil^c Department of Food Science and Technology, Federal University of Santa Catarina, 88034-001, Florianópolis, SC, Brazil

HIGHLIGHTS

- Maripa oil extraction was evaluated using supercritical fluids and pressurized ethanol.
- The highest oil yield from maripa was obtained using pressurized ethanol as a solvent.
- The extraction technique and the different solvents affected maripa palm oil composition.
- Major compounds in maripa oil were oleic and palmitic acids and carotene.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 February 2020

Received in revised form 25 May 2020

Accepted 26 June 2020

Available online 30 June 2020

Keywords:

Palm tree fruit

Oleic acid

Fatty acids

Inajá oil

Pressurized liquid extraction

Supercritical extraction

ABSTRACT

Maximiliana maripa is an underexploited Brazilian native palm from the Amazon biome. The oil obtained from the pulp of ripe *M. maripa* fruit is a rich source of unsaturated fatty acids, carotenoids, and bioactive compounds. This study evaluated the maripa palm pulp oil (MPPO) obtained by supercritical fluid extraction (SFE) with pure supercritical CO₂ (scCO₂), scCO₂ with ethanol as co-solvent (scCO₂ + EtOH), and pressurized liquid extraction (PLE) with ethanol. All the extractions were evaluated at 333.15 K and 20 MPa. The PLE showed higher recovery of MPPO (47.8 wt%) compared to SFE with scCO₂ (3.6 wt%), or scCO₂ + EtOH (20.4 wt%). Oleic, palmitic, linoleic, and linolenic acids were the main fatty acids in MPPO. Other minor compounds such as phenol, carotene, alcohols, and esters were also detected. PLE and SFE presented many advantages for the extraction of MPPO, whose composition suggests a high potential for application in the food and pharmaceutical industries.

© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

There is a growing interest by the population for food and non-food natural products obtained under sustainable practices and produced with no animals as a source of raw material. The industry is currently searching for alternative natural resources, rich in

* Corresponding authors.

E-mail addresses: raturola@gmail.com, rafaelaturola@hotmail.com (R.C. Turola Barbi), ribani@ufpr.br (R. Hoffmann Ribani).

ANEXO III

Food Chemistry 331 (2020) 127333



Contents lists available at ScienceDirect

Food Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchem

Ripe and unripe inajá (*Maximilia maripa*) fruit: A new high source of added value bioactive compounds

Rafaela Cristina Turola Barbi^a, Polyanna Silveira Hornung^b, Suelen Ávila^c,
Fillemon Edillyn da Silva Bambirra Alves^a, Trust Beta^{b,*}, Rosemary Hoffmann Ribani^{a,*}

^a Federal University of Paraná, Graduate Program in Food Engineering, Department of Chemical Engineering, 81531-990 Curitiba, PR, Brazil

^b University of Manitoba, Department of Food & Human Nutritional Sciences, Winnipeg, MB R3T 2N2, Canada

^c Federal University of Paraná, Postgraduate Program in Food and Nutrition, Health Science Sector, 80210-170 Curitiba, PR, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Amazon palm trees
Inajá fruit
Inajá flour
Inajá starch
Inajá oil
Phenolic compounds
Antioxidant activity
Thermal properties

ABSTRACT

Flours obtained from unripe and ripe inajá palm tree fruit pulp, as well as co-products that were generated after oil extraction, were evaluated for the first time. In addition, the oils extracted using ethanol as a solvent were also analyzed. The oils showed similar thermal characteristics, such as thermal stability up to about 253 °C, while also presenting a rich composition of phenolic compounds, antioxidant capacity and carotenoid content. Concerning the raw flours and their defatted counterparts, their free and bound phenolic compounds, which comprised gallic acid, 4-dihydroxybenzoic acid, ferulic acid, *p*-coumaric acid, and *m*-coumaric acid, were identified and quantified using high-performance liquid chromatography. Moreover, the defatting process improved thermal stability and decreased the peak viscosity of the unripe and ripe flours. The presence of starch and bioactive compounds in all the inajá flours provides a rationale for the development of new food and non-food products.

1. Introduction

Brazil is considered one of the main centers of genetic diversity of fruit species. Fruits from palm trees are regarded as either non-traditional and/or exotic; however, they are unknown or underutilized, contributing to their extinction due to intense local deforestation (Curi et al., 2019). The fruits of palm trees with promising technological potential include inajá (*Maximiliana maripa*), pupunha (*Bactris gasipaes*), buriti (*Mauritia flexuosa*), bacabá (*Oenocarpus bacaba*), tucumã (*Astrocaryum vulgare*), and others. The latter belong to the Arecaceae family and their fruits are used for human consumption due to the presence of starch, protein, fiber and vitamins (Barbi et al., 2019; Santos, Alves, Brito, Silva, & Silveira, 2017).

Maximiliana maripa, which is also known as inajá, is a palm tree that is mainly found in northern Brazil; its edible fruit is sold at local markets, where it is purchased to either be eaten fresh or cooked with cassava flour. Unlike other well-known and economically utilized palm trees in Brazil, such as açaí (*Euterpe oleracea*), the inajá fruit is still poorly investigated. Barbi et al. (2019) evaluated the potential of oil extracted from ripe inajá pulp using an unconventional, pressurized fluid extraction technique. They observed that inajá oil was a good source of bioactive phenolic compounds and essential fatty acids, and

that it exhibited high antioxidant activity. Unripe inajá pulp has not previously been characterized, reinforcing the need for research regarding this valuable fruit. Ripe inajá pulp has already been studied by Santos et al. (2017); many bioactive compounds of interest, such as carotenoids, flavonoids and vitamin C, were identified, corroborating with its high antioxidant capacity. In addition, these same authors showed that the ripe pulp has a considerable starch content. Starch is considered the main source of energy in the human diet, and its physicochemical properties are crucial to the final taste of various staple foods (Barbi, Teixeira, Hornung, Ávila, & Ribani, 2018).

Flours derived from fruits such as unripe bananas, apples and grapes are commonly used as an ingredient in various food formulations, either as additives or as partial substitutes for cereal flours (Resende & Franca, 2019). Unconventional fruits such as the inajá may also have the same potential to be used as a flour ingredient in foods and other areas. However, no studies were found in the literature regarding the functional properties of flours made with unripe and ripe inajá pulp. The valorization of a vegetable species can have an indirect impact on the deforestation of such species. The use of the inajá fruit, at different stages of maturity that have not yet been commercially explored, could provide an essential source of income for local family-based agroindustry.

* Corresponding authors.

E-mail addresses: Trust.Beta@umanitoba.ca (T. Beta), ribani@ufpr.br (R. Hoffmann Ribani).